T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞİ TANISI KONULAN HASTALARIN İNTERFERON REGÜLATÖR FAKTÖR, İNTERFERON-ALFA VE BETA DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Caner ÖKSÜZ

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

SİVAS

2023

T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞİ TANISI KONULAN HASTALARIN İNTERFERON REGÜLATÖR FAKTÖR, İNTERFERON-ALFA VE BETA DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Caner ÖKSÜZ

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

Doç. Dr. Seyit Ali BÜYÜKTUNA

SİVAS

2023

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 10/02/2010 tarih ve 2010/1-2 sayılı kararı ile kabul edilen "Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesine" uygun olarak yazılmıştır.

ONAY SAYFASI

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Başkan: Prof. Dr. Nazif ELALDI

Üye: Prof. Dr. Mehmet BAKIR

Üye: Doç. Dr. Seyit Ali BÜYÜKTUNA

Bu tez, …… tarih ve …… sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet ALİM

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca engin bilgi ve birikimlerini bizlerle paylaşan ve tezimin her aşamasında tecrübeleriyle yol gösteren tez danışmanım, değerli hocam Sayın Doç. Dr. Seyit Ali BÜYÜKTUNA'ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bilimsel düşünme ve çalışmayı öğrendiğim, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mehmet BAKIR, Sayın Prof. Dr. Nazif ELALDI ve Sayın Prof. Dr. Aynur ENGİN'e,

Tez çalışmamda kan örneklerinin çalışılması ve analiz bölümündeki desteklerinin yanı sıra tezin her aşamasına katkıda bulunan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Halef Okan DOĞAN'a,

Tez projemizi değerlendirerek maddi destekte bulunan Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (CÜBAP)'ne

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm meslektaşlarıma, hemşire ve klinik çalışanlarına,

Kendisini tanıdığım günden beri en büyük destekçim olan, uzmanlık eğitimim ve tez sürecimde de yardımlarını esirgemeyen hayat arkadaşım Uzm. Dr. Emine Hande ÖKSÜZ'e ve haberini aldığımız andan itibaren heyecanla beklediğimiz, motivasyon kaynağımız kızımıza,

Her an varlıklarını yanımda hissettiğim, beni bugünlere getiren büyük aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç biliyorum.

Dr. Caner ÖKSÜZ

SİVAS 2023

ÖZET

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Tanısı Konulan Hastaların İnterferon Regülatör Faktör, İnterferon-Alfa ve Beta Düzeylerinin Araştırılması

Dr. Caner ÖKSÜZ, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D.

Sivas 2023

Kırım Kongo kanamalı ateşi (KKKA) hastalığının patogenezi hala tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. İnterferonlar (IFN) viral enfeksiyonlara bağışıklık yanıtında önemli rol oynamaktadırlar. İnterferon regülatör faktörler (IRF) IFN yanıtlarının altında yatan gen ekspresyonunun düzenlenmesine katılım sağlarlar. Bu çalışmada hastalığın patogenezinde IRF'lerin etkili olup olmadığı değerlendirilecektir.

Çalışmamızda, patogenezin aydınlatılmasına katkı sunabilmek için, IRF-1, IRF-2, IRF-3, IRF-4, IRF-7, IFN-alfa ve IFN-beta seviyelerini KKKA hastalarında değerlendirmek, sağlıklı kontrollerle karşılaştırmak ve mortalite üzerindeki etkisini belirlemek amaçlanmıştır. Çalışmaya KKKA hastalığı tanısı alan 60 hasta ve kontrol grubu olarak 30 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hasta grubu, Bakır ve arkadaşlarının tanımladığı ağırlık skorlamasına göre hafif, orta ve ağır olarak gruplandırılmıştır.

Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında serum IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilmiştir. Hasta grubunda kontrol grubuna göre IRF-1 hariç diğer tüm parametrelerin artmış düzeyleri tespit edilmiştir. Ayrıca hastaların sağlıklı kontrollerden ayrılmasında en iyi belirteç IRF-2 olarak saptanmıştır. IRF-1 düzeyi şiddetli grupta hafif gruba göre daha düşük bulunmuştur. Şiddetli klinik seyirli hastalarda IRF-7 düzeyi hem hafif hem de orta şiddette klinik gösteren gruba göre daha yüksektir. Yaşayan ve ölen hasta grupları arasında IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Fakat mortalitenin dışlanmasında IFN-alfa, IFN-beta ve IRF-7'nin en güçlü tanısal performansa sahip olduğu saptanmıştır.

Bulgularımız KKKA hastalığı patogenezinde IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta'nın etkili olduğu yönündedir. Ancak IRF'lerin KKKAV ve KKKA hastalığındaki rollerinin aydınlatılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: KKKA, IRF, IFN, patogenez

ABSTRACT

Investigation of Interferon Regulator Factor, Interferon-Alpha and Beta Levels in Patients Diagnosed with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever

Dr. Caner ÖKSÜZ, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Sivas 2023

The pathogenesis of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) disease is still not fully elucidated. Interferons (IFN) play an important role in the immune response to viral infections. Interferon regulatory factors (IRF) participate in the regulation of gene expression underlying IFN responses. In this study, it will be evaluated whether IRFs are effective in the pathogenesis of the disease.

In our study, it was aimed to evaluate IRF-1, IRF-2, IRF-3, IRF-4, IRF-7, IFN-alpha and IFN-beta levels in CCHF patients, to compare them with healthy controls, and to determine their effect on mortality in order to contribute to the clarification of the pathogenesis. 60 patients diagnosed with CCHF disease and 30 healthy individuals as the control group were included in the study. The patient group was grouped as mild, moderate and severe according to the weight scoring defined by Bakır et al.

There was a statistically significant difference in serum IRF-1, 2, 3, 4, 7 and IFN-alpha, beta levels between the patient and healthy control group. Compared to the control group, increased levels of all parameters except IRF-1 were detected in the patient group. In addition, the best marker for separating patients from healthy controls was found to be IRF-2. IRF-1 level was found to be lower in the severe group than in the mild group. In patients with severe clinical course, IRF-7 level is higher than the group with both mild and moderate clinical manifestations. There was no statistically significant difference between the living and deceased patient groups in terms of IRF-1, 2, 3, 4, 7 and IFN-alpha, beta levels. However, IFN-alpha, IFN-beta and IRF-7 were found to have the strongest diagnostic performance in excluding mortality.

Our findings suggest that IRF-1, 2, 3, 4, 7 and IFN-alpha, beta are effective in the pathogenesis of CCHF disease. However, more studies are needed to elucidate the roles of IRFs in CCHFV and CCHF disease.

Keywords: CCHF, IRF, IFN, pathogenesis

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI iii
TEŞEKKÜR iv
ÖZET v
ABSTRACT vi
İÇİNDEKİLER vii
SİMGELER VE KISALTMALAR ix
ŞEKİLLER DİZİNİ xiv
TABLOLAR DİZİNİ xv
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi 3
2.1.1. Tanım 3
2.1.2. Tarihçe 3
2.1.3. Epidemiyoloji 4
2.1.4. Etken 5
2.1.5. Bulaş Yolları 8
2.1.6. Patogenez 9
2.1.7. Klinik Bulgular 11
2.1.8. Laboratuvar Bulguları 12
2.1.9. Tanı 13
2.1.10. Ayırıcı Tanı 14
2.1.11. Tedavi 14
2.1.12. Korunma ve Kontrol 18
2.2. İnterferonlar ve İnterferon Regülatör Faktörler 19
2.2.1. İnterferonlar 19
2.2.2. İnterferon Regülatör Faktörler 21
2.2.3. IRF'ler Tarafından Doğuştan Gelen Bağışıklık Yanıtlarının Düzenlenmesi 23
2.2.4. Viral Enfeksiyonlar ve IRF'ler 28
2.2.5. Viral Hemorajik Ateş ve IRF'ler 30
2.2.6. IRF'ler Tarafından Hücre Büyümesi ve Apoptozun Düzenlenmesi 30

3. GEREÇ VE YÖNTEM 33
3.1.Serum Örneklerinin Elde Edilmesi 33
3.2. ELİSA Yöntemiyle IRF-1,2,3,4,7 ve IFN-alfa, beta Düzeylerinin Ölçülmesi 34
3.2.1.Kit Bileşenleri 34
3.2.2.Reaktif Hazırlanması 35
3.2.3.Test Protokolü 39
3.2.4.IRF-1,2,3,4,7 ve IFN-alfa, beta ELİSA Kit Algılama Aralıkları 41
3.3. İstatistiksel Analiz 41
4. BULGULAR 42
5. TARTIŞMA 59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 69

SİMGELER VE KISALTMALAR

2′-dFC	2′-deoksi-2′-florositidin
ALT	Alanin aminotransferaz
ANOVA	Tek yönlü varyans analizi
aPTT	Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
AST	Aspartat aminotransferaz
BCL	B hücre lenfoma
Blimp-1	B lenfosit kaynaklı olgunlaşma proteini 1
BSL-4	Biyogüvenlik seviyesi 4
BUN	Kan üre azotu
CIITA	Sınıf II transaktivatör
C terminal	Karboksi terminal
CARD	Kaspaz aktivasyon güçlendirme alanı
CBP	CREB bağlayıcı protein
CK	Kreatin kinaz
Cox-2	Siklooksijenaz-2
CPK	Kreatin fosfokinaz
CXCL10	IFN-γ indüklenebilir protein 10
CÜBAP	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
DAI	DNA'ya bağımlı aktivatör
DBD	DNA bağlama alanı
DC	Dentritik Hücre
Dk	Dakika
Ds	Çift sarmal
EBV	*Epstein-Barr virüsü*
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EP	Eppendorf
F	Füzyon
Fap-1	Fibroblast aktivasyon protein-1
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FIO_2	Fraction of Inspired Oxygen

GAAP-1	Golgi antiapoptotik protein-1
GAS	IFN gama aktive edilmiş sekans
GBP	Guanilat bağlayıcı proteinler
GGT	Gamaglutemil transferaz
HB	Hemoglobin
HBZ	HTLV-1 bZIP faktörü
HCV	*Hepatit C virüsü*
HDM2	Human Double Minute 2 proteini
HHV8	*İnsan herpes virüsü 8*
HPV	*Human papilloma virüsü*
HTLV-1	*İnsan T hücreli lösemi virüsü tip-1*
IAD1	IRF ilişkilendirme etki alanı 1
IAD2	IRF ilişkilendirme etki alanı 2
ICAM-1	Hücreler arası adezyon molekülü-1
IFA	Immunofloresan Assay
IFN	İnterferon
IFNAR	IFN alfa reseptörü
IFNGR	İnterferon hücre-yüzey reseptörü
IFNGR1	İnterferon gama reseptör 1
IFNGR2	İnterferon gama reseptör 2
IKKε	IκB kinaz ε
IL	İnterlökin
IL-10R2	İnterlökin-10 reseptörü 2
IL-28Rα	IL-28 reseptör alfa
INR	Uluslararası Normalleştirilmiş Oran
IPS-1	IFNB-promoter stimülatörü 1
IRF	İnterferon regülatör faktör
ISG	İnterferon ile uyarılmış gen
ISGF3	IFN ile indüklenebilir gen faktörü 3
ISRE	IFN ile indüklenmiş yanıt elemanları
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
JAK1	Janus kinaz 1

JNK	c-Jun amino-terminal kinaz
KKKA	Kırım Kongo kanamalı ateşi
KKKAV	*Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsü*
KSHV	*Kaposi sarkomu ile ilişkili herpes virüsü*
L	Büyük
LANA2	Gecikme ile ilişkili nükleer antijen 2
LDH	Laktat dehidrogenaz
LMP-1	Latent membran proteini 1
LMP-2	Düşük moleküler kütleli polipeptit-2
LYM	Lenfosit
M	Orta
MAPK	Mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz
MDA5	Melanom farklılaşması ile ilişkili gen 5
MITA	IRF-3 aktivasyonunun aracısı
MyD88	Miyeloid farklılaşma primer yanıt proteini 88
MxA	Myxovirus resistance protein 1
N proteini	Nükleokapsid proteini
NDV	*Newcastle hastalığı virüsü*
NEU	Nötrofil
NF1	Nörofibromin 1
NF-κB	Nükleer faktör-κB
NK	Doğal öldürücü hücreler
NS3	Yapısal olmayan protein 3
NS4A	Yapısal olmayan protein 4A
NSP1	Yapısal olmayan protein 1
OAS	Oligoadenilat sentaz
$PACO_2$	Parsiyel Arteriyel Karbondioksit Basıncı
PAMP	Patojenle ilişkili moleküler kalıp
PAO_2	Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı
pDC	Plazmasitoid dendritik hücre
pH	Potansiyel Hidrojen
PKR	Protein kinaz-R

PLT	Platelet
PML	Promiyelositik lösemi protein
PRR	Patern tanıma reseptörü
PT	Protrombin zamanı
Rb	Retinoblastom tümör baskılayıcı protein
RbRp	RNA bağımlı RNA polimeraz
RIG-I	Retinoik asit ile indüklenebilir gen-I
RIP-1	Reseptör etkileşimli protein 1
RNA	Ribonükleik asit
ROC	Receiver Operating Characteristics
RTA	Replikasyon ve transkripsiyon aktivatörü
RT-PCR	Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
RVFV	*Rift Vadisi ateşi virüsü*
S	Küçük
SARS-CoV2	*Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2*
SGS	Şiddet derecelendirme skoru
Ss	Tek zincir
ssRNA	Tek zincirli RNA
STAT1	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 1
STAT2	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 2
STING	İnterferon genlerinin uyarıcısı
TAP1	Transporter associated with antigen processing 1
Tat	Transaktivatör protein
TBK1	TANK bağlayıcı kinaz 1
Th	T yardımcı hücreleri
TLR	Toll benzeri reseptör
TNF	Tümör nekroz faktörü
TPE	Terapötik plazma değişimi
TRAF6	TNF reseptörü ile ilişkili faktör 6
TRAIL	Tümör Nekroz Faktörü İlişkili Apoptozu İndükleyen Ligand
TRIF	TIR-etki alanı içeren IFN'yi indükleyen adaptör protein
TYK2	Tirozin kinaz 2

VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü-1
vIRF	Viral IRF
VSV	*Veziküler stomatit virüsü*
WBC	Beyaz kan hücresi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ZBP1	Z-DNA bağlayıcı protein 1

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. KKKA'nın coğrafi dağılımı 4
Şekil 2.2. Kelkit Vadisi. 4
Şekil 2.3. Türkiye'de Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Vakalarının ve Ölümlerinin 2008-2017 Yılları Arasındaki Dağılımı. 5
Şekil 2.4. KKKAV'nin şematize edilmiş bir gösterimi 6
Şekil 2.5. KKKAV'nin hücre içi replikasyon döngüsü 7
Şekil 2.6. KKKA'nın klinik ve laboratuvar seyri. 11
Şekil 2.7. Tip I, tip II ve tip III IFN reseptörleri ile sinyal iletimi. 21
Şekil 2.8. İnsan IRF aile üyelerinin şematik gösterimi 22
Şekil 3.1. IRF-1 reaktifi hazırlanması. 35
Şekil 3.2. IRF-2 reaktifi hazırlanması. 36
Şekil 3.3. IRF-3 reaktifi hazırlanması. 37
Şekil 3.4. IRF-4 reaktifi hazırlanması. 37
Şekil 3.5. IRF-7 reaktifi hazırlanması. 38
Şekil 3.6. IFN-alfa reaktifi hazırlanması. 38
Şekil 3.7. IFN-beta reaktifi hazırlanması. 39

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. KKKA hastalığında destek tedavisi 15
Tablo 2.2. IRF'lerin immün yanıttaki rollerinin özeti 23
Tablo 2.3. IRF transkripsiyon faktörü ailesi tarafından bağışıklık ve onkogenezin düzenlenmesi. 31
Tablo 3.1. Human IRF-1,2,3,4,7 ve IFN-alfa, beta ELİSA Kit Bileşenleri. 34
Tablo 3.2. IRF-1,2,3,4,7 ve IFN-alfa, beta ELİSA Kit Algılama Aralıkları 41
Tablo 4.1. Yaş ve cinsiyet dağılımlarının gruplar arasında karşılaştırılması. 42
Tablo 4.2. Hastaların tanımlayıcı özellikleri. 43
Tablo 4.3. Hasta ve sağlıklı kontroller arasında interferon düzeylerinin karşılaştırılması. 44
Tablo 4.4. Ölen ve yaşayan hastalar arasında klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması. 45
Tablo 4.5. SGS grupları arasında interferon düzeylerinin karşılaştırılması. 47
Tablo 4.6. Hastalık durumunun belirlenmesinde IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeylerinin tanı performanslarının araştırılması. 52
Tablo 4.7. Hastalarda mortalitenin belirlenmesinde IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeylerinin tanı performanslarının araştırılması. 57
Tablo 4.8. IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta değişkenleri ile laboratuvar parametreleri arasındaki ilişkinin Spearman korelasyon analizi ile araştırılması. 58

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 4.1. KKKA hastalarında IFN-alfa değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi. 48
Grafik 4.2. KKKA hastalarında IFN-beta değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi. 48
Grafik 4.3. KKKA hastalarında IRF-1 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi. 49
Grafik 4.4. KKKA hastalarında IRF-2 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi. 49
Grafik 4.5. KKKA hastalarında IRF-3 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi. 50
Grafik 4.6. KKKA hastalarında IRF-4 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi. 50
Grafik 4.7. KKKA hastalarında IRF-7 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analiz. 51
Grafik 4.8. KKKA hastalarında IFN-alfa değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz. 53
Grafik 4.9. KKKA hastalarında IFN-beta değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz. 53
Grafik 4.10. KKKA hastalarında IRF-1 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz. 54
Grafik 4.11. KKKA hastalarında IRF-2 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz. 54
Grafik 4.12. KKKA hastalarında IRF-3 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz. 55
Grafik 4.13. KKKA hastalarında IRF-4 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz. 55
Grafik 4.14. KKKA hastalarında IRF-7 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz. 56

1. GİRİŞ

Kırım Kongo kanamalı ateşi (KKKA), ateş ve hemorajik belirtilerle karakterize zoonotik bir hastalıktır (1). Hastalığın etkeni, *Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsü* (KKKAV), *Nairoviridae* ailesinin *Orthonairovirus* cinsi içerisinde sınıflandırılan negatif polariteli, tek sarmallı, zarflı bir ribonükleik asit (RNA) virüsüdür (2).

Virüs, başlıca *Hyalomma* cinsi enfekte kenelerin ısırması yoluyla yayılır, ancak enfekte hayvanların ve insanların vücut sıvılarıyla doğrudan temas yoluyla da bulaşabilir veya uygun şekilde sterilize edilmemiş tıbbi ekipman yoluyla yayılabilir (3).

Birkaç günlük bir kuluçka döneminden sonra, KKKA hastalığının ilk semptomları ani başlayan ateş, kas ağrısı, ishal, bulantı ve kusma gibi spesifik olmayan semptomlardır. Bundan sonra, hastalar vücudun çeşitli yerlerinden kanadıkları kanamalı döneme girerler. Vaka ölüm oranları salgınlar arasında farklılık gösterebilir ancak tipik olarak %5 ila %30 arasında değişir. Bununla birlikte, subklinik veya hafif KKKA hastaları fark edilmeyebilir ve insanlarda KKKA enfeksiyonlarının önemli bir bölümünü temsil edebilir (4).

KKKA hastalığı tanısı, KKKAV'nin varlığının doğrudan saptanmasıyla veya akut enfeksiyonla uyumlu serolojik yanıtların ölçülmesiyle (anti-KKKAV IgM antikorları veya seri kan örnekleri arasında anti-KKKAV IgG titrelerinde 4 kat artış) doğrulanabilir (3).

KKKA hastalığında, destekleyici tedavi birincil tedavi şeklidir. Geniş spektrumlu bir antiviral ilaç olan ribavirin, insan KKKA vakalarına uygulanmıştır; bununla birlikte, terapötik faydaları belirsizliğini korumaktadır. Vaka raporlarında kullanılan diğer terapötik adaylar arasında steroid, nekahat dönemi serumu ve spesifik immünoglobulin bulunur, ancak bu tedavilerin etkinliğini değerlendirmek için yeterli kanıt yoktur (5).

Omurgalılarda on interferon regülatör faktör (IRF) ailesi üyesi tanımlanmıştır ve on genin tümü birçok omurgalı türünde mevcuttur. Farelerde ve insanlarda, IRF-10 gibi genlerin bazıları ortadan kaldırılmış veya işlevsiz hale getirilmiştir (6).

IRF ailesinin transkripsiyon faktörleri, interferonların (IFN) indüklenmesinden çeşitli IFN yanıtlarına kadar tüm tip I IFN sistemini düzenler, böylece patojenlere karşı konakçı direnci için önemli bir temel sağlar. Bununla birlikte, ailenin çeşitli ek rolleri vardır. Bağışıklık sisteminin gelişimini düzenleyen IRF'ler, doğuştan gelen ve uyarlanabilir bağışıklığın kurulmasını ve yürütülmesini şekillendirir. IRF'ler ayrıca birçok hücre tipinin büyümesini ve farklılaşmasını düzenler, böylece lösemi ve diğer kanserlerde de rol oynar. Ek olarak, kanıtlar IRF'lerin doğrudan IFN sistemine atfedilmeyen antiviral mekanizmalar sağladığını da göstermektedir (7).

Çalışmamızda KKKA hastalarında IRF - 1, 2, 3, 4, 7 ve IFN - alfa, IFN – beta düzeylerinin incelenmesi, sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması ve patogenezdeki etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, daha önce bildiğimiz kadarıyla KKKA hastalarında çalışılmamış olan IRF'lerin bu etkileşimdeki rolünü anlamak, patogenezi aydınlatmak ve ileride tedavi seçeneklerine katkıda bulunması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi

2.1.1. Tanım

KKKA, enfekte kenelerin ısırması veya viremik hastaların ve hayvanların kan veya dokuları ile doğrudan temas yoluyla insanlara bulaşır. Keneler arasında *Hyalomma spp.* en yetkin virüs vektörleri olarak kabul edilir (8). Etken ajan olan KKKAV, *Bunyavirales* grubunun *Nairoviridae* ailesinin *Orthonairovirus* genusunda sınıflandırılan bir RNA virüsüdür (9). KKKA enfeksiyonunda inkübasyon, prehemorajik, hemorajik ve konvelesan dönemleri olmak üzere 4 farklı evre vardır. Hastalığın inkübasyon süresi, virüsün bulaşma yoluna, viral yüke ve konağın bağışıklık durumuna bağlı olarak 3 ila 14 gün arasında değişmektedir. İnkübasyon döneminden sonra akut ateş (39 - 41 °C), yaygın kas ağrısı, şiddetli baş ağrıları, titreme, bulantı ve kusma, ishal, yüzde ve konjonktivada kızarıklık, fotofobi, makülopapüler döküntü gibi şikayetlerle prehemorajik dönem başlar. Daha sonra peteşi, purpura ve ekimoz şeklinde cilt altı kanamalar ve diş eti, burun, vajina, gastrointestinal sistem, üriner sistem, akciğer ve beyin kanaması gibi hemorajik semptomlar hastalığın ilerleyen evrelerinde görülür. Ağır hastalık durumlarında bilinç kaybı, ajitasyon, hepatorenal yetmezlik, solunum yetmezliği, dissemine intravasküler koagülopati, şok ve koma gelişebilir ve ölüm meydana gelebilir (10). KKKA, Türkiye, Asya, Afrika'nın bazı bölgeleri, Orta Doğu ve Doğu Avrupa'daki bazı ülkelerde endemik olup mortalitesi % 5 - 30'dur.

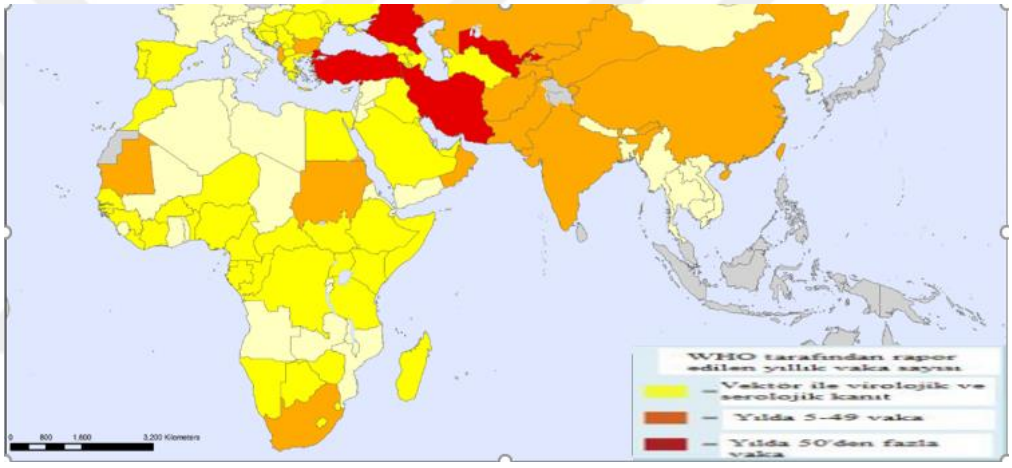
2.1.2. Tarihçe

Dünyanın farklı yerlerinde KKKA'yı tanımlamak için farklı isimler kullanılmıştır: Asya Ebolası, Khungribta (kan alma), Khunymuny (burun kanaması) veya Karakhalak (Kara Ölüm). Kırım Yarımadası'nda, 1944 ve 1945 yılları arasında % 10'luk vaka ölüm oranıyla büyük bir hemorajik ateş salgını rapor edilmiştir. Daha sonra virüsün, 1956'da Belçika Kongo'sunda (şu anda Demokratik Kongo Cumhuriyeti olarak bilinir) bir hastanın kanından izole edilen Kongo virüsü ile antijenik olarak aynı olduğu gösterilmiştir. İki yer adının bağlantısı, hastalık ve virüs için mevcut isimle sonuçlanmıştır (11).

Türkiye'deki ilk KKKA vakası 2002 yılında Tokat ilinde bildirilmiştir. Türkiye, son yıllarda en çok KKKA vakasına sahip endemik ülkelerden birisidir (12).

2.1.3. Epidemiyoloji

KKKA, 1944-1945 yıllarında Kırım'da konuşlanmış Sovyet askeri personeli arasında bir salgın sırasında tanımlanmıştır. KKKA, hem Afrika hem de Avrasya'da geniş ölçüde endemiktir ve Kırım'da ilk vakaların ortaya çıkmasından bu yana 30'dan fazla ülke vaka bildirmiştir. Asya'da 11 ülke ve Afrika'da 9 ülke, ilk doğrulanmış insan KKKA vakalarını bildirmiş ve vakaların sayısında, 2000 yılından bu yana küresel bir artış olmuştur (13). KKKA'nın coğrafi dağılımı Şekil 2.1'de gösterilmiştir (14).



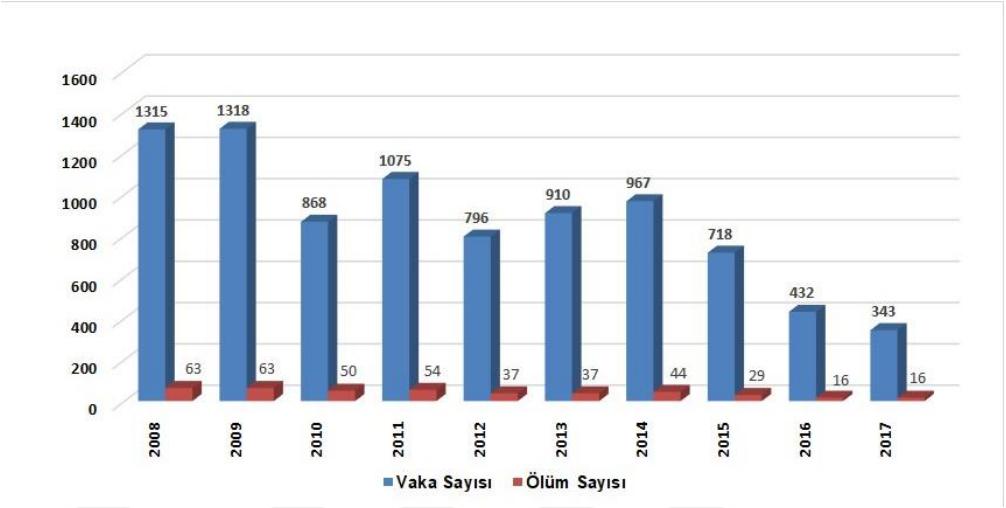
Şekil 2.1. KKKA'nın coğrafi dağılımı (14).

Türkiye'de en fazla vaka, Şekil 2.2'de gösterilen Kelkit Vadisi bölgesinden bildirilmektedir. İlk vaka da, 2002 yılında Kelkit Vadisi bölgesindeki Tokat ilinde tespit edilmiştir (15).



Şekil 2.2. Kelkit Vadisi (15).

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, 2008-2017 yılları arasında bildirilen vaka ve ölüm sayılarını yayınlamıştır (16). Bu veriler Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Türkiye'de Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Vakalarının ve Ölümlerinin 2008-2017 Yılları Arasındaki Dağılımı (16).

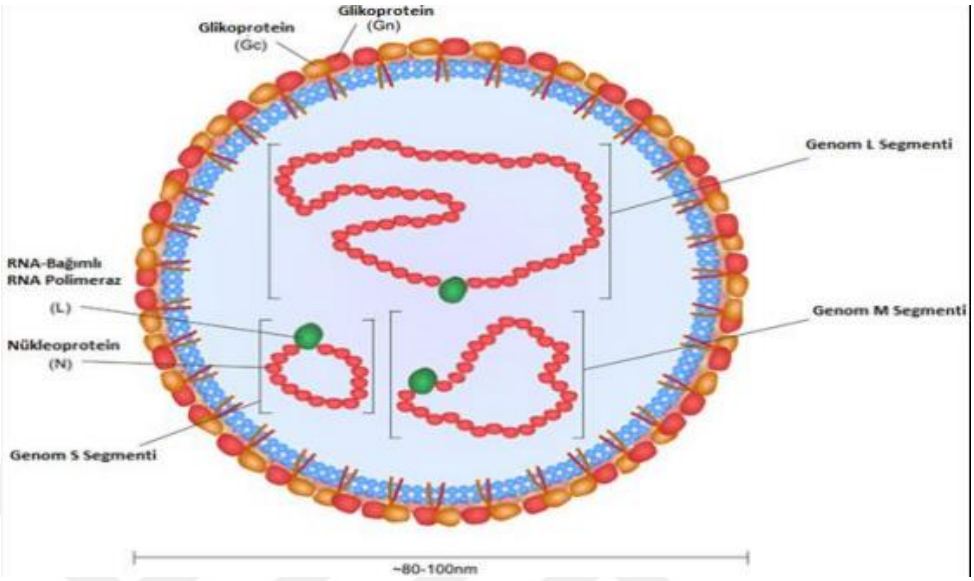
Hastaların % 70 – 75'inde kene tutunma öyküsü bulunmaktadır. En büyük risk grubunu, endemik bölgede yaşayan, tarım ve hayvancılıkla uğraşanlar oluşturmaktadır. Ülkemizdeki olguların yaklaşık % 90'ını çiftçilikle uğraşanlar oluşturmaktadır. Ayrıca sağlık çalışanları, kasaplar, mezbaha çalışanları, askerler ve veterinerler yüksek risk altındadırlar (17).

Hastalık mevsimsel özellik göstermektedir. Eski Sovyetler Birliği'nde Haziran ve Temmuz aylarında en yüksek hasta sayısına ulaşılmaktadır. Güney Afrika Cumhuriyeti'nde vakaların çoğu ilkbahar ve sonbaharda görülmektedir. Genel olarak hastalığın Haziran-Eylül arasındaki aylarda ortaya çıktığı bildirilmekle beraber; bölgeye göre değişmekte ve Ocak ayında da görülebilmektedir (18).

2.1.4. Etken

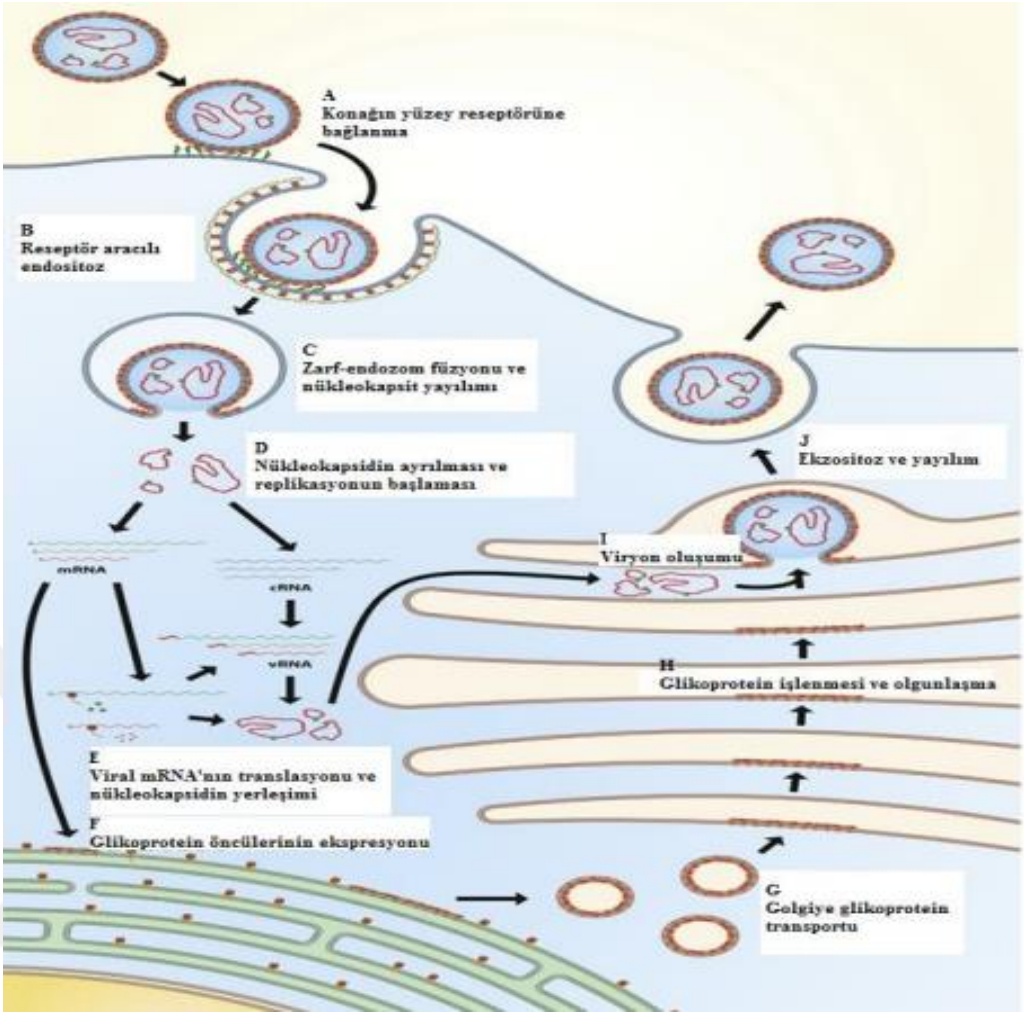
KKKAV, *Bunyavirales* grubunun, *Nairovirus* ailesine ait *Orthonairovirus* genusunda sınıflandırılan bir virüstür (9). Morfolojisi, replikasyon siklusu ve fizikokimyasal özellikleri bakımından *Bunyaviridae* grubunun tipik üyelerindendir (19). Tek sarmallı, zarflı, negatif polariteli ve çoğunlukla küresel yapıda bir RNA virüsüdür. Virüsün genomu 3 segmentlidir. Her bir RNA segmenti ile birlikte virüse ait RNA bağımlı RNA polimeraz (RbRp) da paketlenmiştir. Büyük (L) segment,

RbRp'ı; orta (M) segment, Gc ve Gn glikoproteinlerini ve küçük (S) segment de nükleokapsid proteinini (N proteini) kodlamaktadır (20). Virüsün şematize edilmiş hali Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. KKKAV'nin şematize edilmiş bir gösterimi (21).

Zarflı virüslerin hücrelere girişi, zarf glikoproteinlerinin hücre yüzeyi ile ilişkili reseptörlere bağlanmasıyla başlatılır. KKKAV'nin Gn ve Gc olmak üzere 2 zarf proteini vardır. Yakın tarihli bir çalışmanın bulguları (22), Gc'nin KKKAV için birincil hedef bağlayıcı protein olduğunu göstermektedir. Gc sadece hedef hücrelere bağlanmakla kalmamaktadır, aynı zamanda virüs girişine de aracılık etmektedir. Daha önceki çalışmalar KKKAV girişinin, kolesterol ve pH'a bağlı olan klatrin bağımlı endositoz yoluyla gerçekleştiğini belirtmiş ve insan dokularında nükleolin hücre yüzeyi ekspresyonu ile KKKAV dağılımı arasında bir korelasyon tanımlamıştır. Virionların hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasından ve endositoz yoluyla girişten sonra, viral RbRp sitoplazmaya erişir. Transkripsiyon ve translasyonla viral proteinler üretilir; ayrıca RNA kopyalanır. Virionların toplanması Golgi zarında gerçekleşir; daha sonra yeni KKKAV, konakçının plazma zarından tomurcuklanır ve başka bir hücreye girmeye hazırlanır (11). KKKAV'nin hücre içi replikasyon döngüsü Şekil 2.5'te şematize edilmiştir (21).



Şekil 2.5. KKKAV'nin hücre içi replikasyon döngüsü (21).

KKKAV için, S RNA segmentinin tam genetik dizisinin filogenetik analizine göre ve coğrafi kökene dayalı olarak, şu ana kadar dokuz genetik olarak farklı alt grup bildirilmiştir. Bunlardan dördü ağırlıklı olarak Afrika'da, ikisi Asya'da ve üçü Avrupa'da şu şekilde dağılmıştır: Afrika - 1 (genotip I), Afrika - 2 (genotip II), Afrika - 3 (genotip IIIa) ve Afrika - 4 (genotip IIIb); Asya - 1 (genotip IVa) ve Asya - 2 (genotip IVb); Avrupa - 1 (genotip V), Avrupa - 2 (genotip VI) ve Avrupa - 3 (genotip VII) (23). Türkiye'de dolaşan KKKAV izolatlarının S ve M segment dizisinin filogenetik analizinin Avrupa - 1'e ait olduğu belirlenmiştir. Doğu Avrupa - Rusya ve Balkan Yarımadası'nda bulunan virüslerle yakından ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (24).

KKKAV, dış ortama dayanıklı değildir ve konak dışında uzun süre yaşayamaz. Kanda 40°C'de 10 gün yaşayabilir. Düşük pH ve ultraviyole ile hızla inaktive olur.

Virüs 75°C'de 5 dakikada (dk), 56°C'de 30 dk'da inaktive olur. Dezenfektanlardan % 1 hipoklorit ve % 2 gluteraldehide duyarlıdır (25).

2.1.5. Bulaş Yolları

KKKAV, genellikle insanlara *Ixodid* kenelerin ısırmasıyla veya enfekte hayvanların kan ve dokularıyla temas yoluyla bulaşır. İnsandan insana bulaşma, yalnızca enfeksiyonun akut fazı sırasında viremik hastalarla doğrudan temas yoluyla bildirilmiştir. İğne batması yaralanmaları, gastrointestinal kanama müdahaleleri, acil cerrahi prosedürler ve enfekte olmuş materyallere uygun kişisel koruyucu ekipman kullanımı olmadan temas edilmesi KKKA bulaşı için yüksek riskli faaliyetler olarak bildirilmiştir. Ayrıca, solunum yolu ile bulaşma meydana gelebilir (26,27). Virüs, insandan insana hastane ortamında da bulaşabilir. KKKA vakalarını takip eden sağlık çalışanları iğne batması, enfekte kan ve salgılarla temas ve cerrahi sırasında yaralanmalar yolu ile virüsü alabilirler (28,29).

KKKA coğrafi dağılımı, virüsün ana yetkin vektörleri olan *Hyalomma spp.* (başlıca *H. marginatum, H. rufipes, H. anatolicum* ve *H. asiaticum*) *Ixodid* grubu kenelerinin yayılımı ile ilişkilidir. "Vektör yetkinliği" terimi, bir vektörün bir patojeni edinme, sürdürme ve iletme yeteneğini tanımlamak için kullanılır. *H. marginatum*, Güney Avrupa'da ve Asya ile Afrika'nın bazı bölgelerinde bulunur. İnsan konakları aramadaki saldırganlığı ile karakterizedir. İklim ve çevresel faktörlerin *H. marginatum* için uygun olduğu KKKA endemik bölgelerinde, kenelerin ilkbahar ve yaz aylarında popülasyonları artar ve *H. marginatum* bölgedeki kene türlerinin % 30'unu oluşturur. KKKAV, ek kene türlerinden tespit edilmiş veya izole edilmiştir, ancak bunların yetkin virüs vektörleri olup olmadığını göstermek için çalışmalara ihtiyaç vardır. Bir eklem bacaklının gerçek bir vektör olarak suçlanması için çeşitli kriterlerin karşılanması gerekir. Laboratuvar çalışmalarında vektör yeterliliği, eklem bacaklı türlerinin doğada uygun viremi geliştiren bir konakçı üzerinde beslenmesi ve viral bulaşmanın meydana geldiği zamanda aktif olduğuna dair kanıtlar bu kriterlere örnek olarak verilebilir. Virüs, kenelerin yaşam süresi boyunca kenelerde varlığını sürdürürken, enfekte kenelerin kışı geçirmesi, salgın odaklarının korunmasında kritik bir rol oynar (8).

Keneler; transovarial, transstadial (larvadan nimf ve yetişkine) ve venereal iletim yoluyla korunabilen KKKAV'nin vektörleri ve rezervuarları olarak hizmet eder (30).

Kan emilmesi sonrası, virüs, kenenin humoral ve hücresel bağışıklık tepkilerinden kaçar. Kenenin orta bağırsağında çoğalır; daha sonra kan ve lenf dolaşımına yayılır ve çeşitli dokuları enfekte eder. En yüksek viral titreler çoğalan dokularda (örneğin, tükürük bezleri ve üreme dokuları) gözlenir. Keneleri enfekte etmek için gereken minimum virüs titresi, kene türleri arasında değişiklik gösterir. Enfekte bir kenenin dokularındaki KKKAV replikasyonu, kenenin tutunması ve duyarlı bir konakta beslenmesi ile uyarılabilir. Kenelerdeki viral enfeksiyonlar tamamen sessiz değildir ve kenenin hayatta kalmasını, davranışını ve gen ekspresyonunu etkileyebilir (8).

Kene ile konak arasındaki ilk temas, konakta kene beslenmesinin uzun süren karmaşık süreci sırasında kene ısırığı ile gerçekleşir. Besleyici lezyona tükürük bezi salgılarının girişi, patojenlerin ve toksinlerin omurgalı konağa eriştiği ve konak reaksiyonlarına aracılık ettiği ana yoldur. Konağın hemostatik, inflamatuar ve immün yanıtlarına rağmen kene, tükürük bezlerinde bulunan ve tükürükle salgılanan maddeler aracılığıyla kanla beslenmek için bağlı kalmayı başarır. Antikoagülanlar, sitolitik maddeler, vazoaktif aracılar (prostaglandinler gibi) ve ağız kısımlarını cilde sabitleyen sıvılar salgılanan maddeler arasındadır. Tükürük bezleri, eklem bacaklı vektörler tarafından patojen bulaşması için en önemli yol olduğundan, konağa salgılanan tükürük hacminin, bulaşmanın etkinliğini belirleyen ana faktör olması beklenmektedir (8).

2.1.6. Patogenez

KKKA hastalığının patogenezi; enfeksiyonların sporadik olarak ortaya çıkması, tam otopsi yapma imkanlarının kısıtlı olduğu alanlarda meydana gelmesi, biyogüvenlik seviyesi 4 (BSL-4) içeren laboratuvarlar gerektirmesi ve mevcut hayvan hastalık modellerinin eksikliği nedeniyle tam olarak anlaşılamamıştır (31).

Endotel hasarı KKKA enfeksiyonunun patogenezinde önemli bir role sahiptir. Trombosit agregasyonunu ve degranülasyonunu stimüle ederek hemostatik başarısızlığa katkıda bulunur. Bunun sonucunda intrinsik pıhtılaşma kaskadının

aktivasyonu sağlanır. Endotel, endotel aktivasyonuna ve disfonksiyonuna neden olan viral faktörler veya virüs aracılı konakçı kaynaklı çözünür faktörler tarafından dolaylı olarak hedeflenebilir. Adezyon molekülleri; lökosit yuvarlanması, sıkı adezyon ve transmigrasyonda yer alır. Adezyon molekülleri arasında bazıları endotel hücre aktivasyonuna katılır. Hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler endotel üzerinde yapısal olarak eksprese edilir. Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), aktive edilmiş vasküler endotel, dendritik hücreler ve nöral hücreler dahil olmak üzere çeşitli hücrelerde eksprese edilir. Hem ICAM-1 hem de VCAM-1, immünoglobulin gen süper ailesinin üyeleridir. P-, E- ve L-selektin, adezyon moleküllerinden selektin ailesine aittir. E-selektin sadece aktive edilmiş endotelde ifade edilir; P-selektin bir zar molekülü, trombosit granülüdür; L-selektin, lökositlerin yüzeyinde yapısal olarak eksprese edilir (32,33).

Ciddi KKKA vakalarında anlamlı derecede daha yüksek serum VCAM-1 düzeyleri tespit edilmiştir. Bu nedenle, serum VCAM-1 düzeylerinin yükselmesi endotel aktivasyonunu gösterebilir. Ayrıca, serum VCAM-1 düzeylerinin, KKKA hastalık şiddetinin yanı sıra prognozun da bir göstergesi olabileceği ileri sürülmektedir (34).

Hastalarda endotel disfonksiyonunu değerlendirmek için biyobelirteç olarak serum endokanının da kullanılabileceği; ayrıca artmış inflamasyon ile endotel disfonksiyonu arasında ilişki bulunamadığı bildirilmiştir (35).

Bir çalışmada viral yükü $\geq 1 \times 10^9$ kopya/mL olan hastaların, viral yükü $<1 \times 10^9$ kopya/mL olan hastalardan daha şiddetli hastalık yaşadığı gösterilmiştir. Çalışmacılar, bu durumu yüksek viral yükün daha büyük endotel hasarı ile ilişkili olabileceğiyle açıklamışlardır (36).

KKKA enfeksiyonu sırasında gözlenen sitopenide hemofagositozun rol oynayabileceği düşünülmektedir. KKKA enfeksiyonunda sürekli olarak değişen derecelerde sitopeni bulunur. İnterferon-γ, tümör nekroz faktörü (TNF)-α, interlökin (IL)-1 veya IL-6 gibi yüksek düzeyde T yardımcı hücreleri-1 (Th-1) sitokinleri tarafından uyarılan monositlerin aşırı aktivasyonu, hemofagositik lenfohistiyositozun olası immünopatolojik mekanizması olarak değerlendirilmektedir (37).

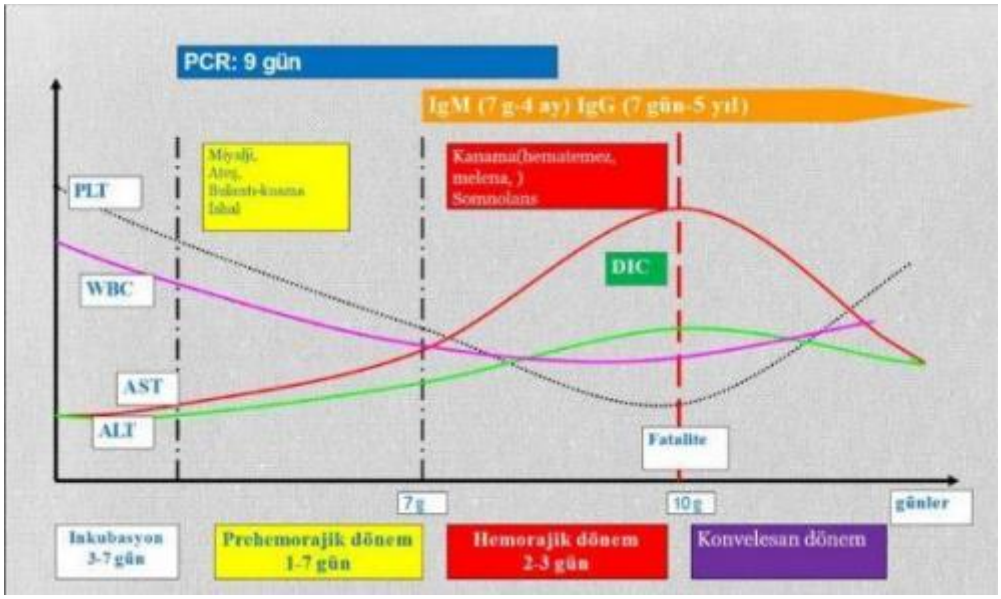
Viral hemorajik ateşler sırasında, inflamatuar süreçler immün yanıtın anahtar unsurlarıdır ve proinflamatuar sitokinlerin, özellikle IL-1, IL-6 ve TNF-α, salınımının hastalık seyri ile ilişkili olduğu öne sürülmüş ve ölen hastalarda hayatta kalanlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (38,39).

CD3 + CD8 + T lenfosit düzeyleri ölümcül KKKA olgularında ölümcül olmayan olgulara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, KKKA enfeksiyonunda sitotoksik immün yanıtların aktive olduğunu göstermektedir. Ancak bu aktivasyona rağmen ölümcül bir sonuç önlenememiştir. Yüksek viral yükün yanı sıra diğer ek faktörlerin bu sonucu etkilemiş olabileceği varsayılmaktadır (40).

2.1.7. Klinik Bulgular

KKKA klinik bulgular yönüyle diğer viral kanamalı ateşlerle belirgin benzerlik gösterir. Enfeksiyonun oluşmasına 1-10 virüs gibi az miktarda virüs yeterli olmasına rağmen enfekte olan insanların hasta olma olasılığı düşüktür. Virüsü alanlar içinde yaklaşık beş kişiden birinde hastalık ortaya çıkmaktadır (41,42).

Hastalığın klinik seyri dört evreden oluşmaktadır. Bunlar inkübasyon, prehemorajik, hemorajik ve konvelesan dönemleridir (43). KKKA'nın klinik ve laboratuvar seyri Şekil 2.6'da şematize edilmiştir (42).



Şekil 2.6. KKKA'nın klinik ve laboratuvar seyri (42)**.**

İnkübasyon dönemi hastalık oluşumuna kadar geçen süredir. İnkübasyon süresi değişkendir ve maruz kalma yolundan etkilenir. Bu süre, enfeksiyon kene ısırmasından kaynaklandığında 1-3 gün ile maksimum 9 gün arasındadır. Enfeksiyonun enfekte dokular veya kan yoluyla bulaşmasında ise 5-6 günden 13 güne kadar sürer (11).

Prehemorajik dönem, ani ateş yükselmesi (39-41 ºC), baş ağrısı, miyalji, baş dönmesi ile karakterizedir. Ateş ortalama 4-5 gün sürer. Ek belirtiler, ishal, bulantı ve kusmadır. Yüz, boyun ve göğüste hiperemi, konjonktivit bu dönemde görülür. Bu dönem 1-7 gün sürer (44).

Hemorajik dönem kısadır, hızla gelişir ve genellikle hastalığın üçüncü ila beşinci günü arasında başlar. Hemorajik bulgular peteşilerden büyük hematomlara kadar değişir. En sık kanama bölgeleri burun, gastrointestinal sistem (hematemez, melena ve karın içi), uterus (menometroraji), idrar yolu (hematüri) ve solunum yoludur (hemoptizi). Farklı kanama prezentasyonları da görülür (42).

Konvelesan dönem, hayatta kalanlarda hastalığın başlangıcından yaklaşık 10-20 gün sonra başlar. Hastalar yaklaşık 9-10 gün hastanede kalırlar. Taşikardi, geçici saç dökülmesi, polinörit, nefes almada zorluk, kserostomi, zayıf görme, işitme kaybı ve hafıza kaybı bildirilmiştir. Bilindiği kadarıyla, KKKA tekrarlayan bir hastalık değildir ve nüksler beklenmez (44).

2.1.8. Laboratuvar Bulguları

Laboratuvar bulguları olarak lökopeni, nötropeni, trombositopeni olguların tamamına yakın bir bölümünde görülür, ciddi hastalarda kanamalardan sonra eritrosit sayısı ve hemoglobin (HB) düşer. Serum transaminaz değerleri [alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gamaglutemil transferaz (GGT)], kreatin fosfokinaz (CPK) ve laktat dehidrogenaz (LDH) değerleri artmıştır. Total protein ve albumin değerleri azalabilir. Kanama zamanı, PT (protrombin zamanı), aPTT (aktive parsiyel tromboplastin zamanı) uzamıştır, fibrin yıkım ürünleri artar, fibrinojen azalır. Başlangıçta proteinüri, daha sonra hematüri saptanır. Az sayıda ciddi olguda bilirubin, üre ve kreatinin değerleri de artabilir (45).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada, ölümle sonuçlanan vakalarda INR (Uluslararası Normalleştirilmiş Oran), AST, LDH ve CPK düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (46). Yine yapılan bir başka çalışmada ise uzamış aPTT (≥ 60 s) ve azalmış trombosit sayısı ($\leq 20\times10^9$/l) mortalite için risk faktörü olarak belirlenmiştir (47).

2.1.9. Tanı

Hastalığa yönelik tanı basamaklarını irdelemek gerekirse;

Öykü

Hızlı tanı, hem hastalığın erken fark edilmesi hem de bulaşın önlenmesi bakımından önemlidir. Hastalığın erken dönem klinik semptomları özgül değildir. Bu nedenle hastaların 10 gün içindeki öykülerinin alınması önemlidir. KKKA hastalığı yönünden endemik bölgede yaşama, benzer kliniği olan hastalarla veya hasta hayvanlarla direkt temas ya da kene ısırığı varlığı sorgulanmalıdır (48).

Çobanlar, süt işçileri, veterinerler, çiftçiler, mezbaha personeli, laboratuvar çalışanları ve hastane personeli başlıca risk grubunu oluşturmaktadır (49).

Virüsün İzolasyonu

BSL-4 düzeyinde standartları olan laboratuvarlar gerekmektedir. Virüsün izolasyonu, akut fazdaki kan-doku örneklerinin yenidoğan fare beynine ya da peritonuna ekilmesi ile yapılır. İki ile beş gün içerisinde sonuç alınabilir. Doku kültürü olarak LLC-MK2 (rhesus monkey, *Macaca mulatta*), Vero (African green monkey kidney, *C. aethiops*) ve SW13 (human small cell carcinoma of adrenal cortex) kullanılır. Kültürde üretilmesinin duyarlılığı düşüktür (21).

Serolojik Yöntemler

Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), KKKA'da antikor tespiti için en yaygın kullanılan teknik olmasına rağmen, Immunofloresan Assay (IFA)'in daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. IgM akut enfeksiyonu gösterir ve enfeksiyonun ilk haftasında saptanır. Spesifik IgM düzeyi hastalığın başlangıcından iki-üç haftaya kadar en yüksek seviyededir ve enfeksiyondan yaklaşık dört ay sonra belirlenemeyecek düzeylere kadar geriler. IgG hastalığın 7-10. gününde oluşur,

hastalıktan beş yıl sonra da belirlenebilir (50,51). Akut enfeksiyon tanısı, iki ardışık serum örneğinde dört kat titre artışı ya da tek bir örnekte IgM antikorlarının tespiti ile konur (52).

Moleküler Yöntemler

KKKAV'nin tespiti için önerilen moleküler tanı testi, revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonudur (RT-PCR). Bu teknik hassas, spesifik ve hızlıdır. KKKAV genomu RT-PCR ile serum, kan ve dokudan tespit edilebilir. Viral RNA hastalığın 16. gününe kadar tespit edilebilir. Son yıllarda, KKKAV'nin tespiti ve nicelleştirilmesi için gerçek zamanlı PCR yaklaşımları geliştirilmiştir. Gerçek zamanlı PCR, daha yüksek hassasiyet ve özgüllüktedir. Daha düşük kontaminasyon ve algılama için harcanan sürenin kısalığı bakımından geleneksel PCR'ye göre avantajlıdır (53,54).

2.1.10. Ayırıcı Tanı

KKKA, ateş yüksekliği, karaciğer enzimlerinde artış ve trombosit düşüklüğü ile seyreden bir hastalık olması nedeniyle birçok hastalık ile karışabilmektedir. Bunlar enfeksiyöz nedenler olabildiği gibi, enfeksiyon dışı hastalıklar da olabilir. Enfeksiyöz nedenler arasında başta bruselloz, leptospiroz, riketsiyoz, Q ateşi ve diğer viral kanamalı ateş hastalıkları gelebilir. Enfeksiyon dışı nedenlerden ise vitamin B12 eksikliği, maligniteler, kollajen doku hastalıkları benzer seyir ile karşımıza çıkabilmektedir (55,56).

2.1.11. Tedavi

KKKA hastalığı için Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı bir aşı veya spesifik antiviral yoktur; bu nedenle tedavinin temelini destek tedavisi oluşturmaktadır. Erken destek tedavisi hayat kurtarabilir. Kan ürünlerinin transfüzyonu birinci basamak tedavidir. Bu tedavinin esasları Tablo 2.1'de özetlenmiştir (5,57).

Tablo 2.1. KKKA hastalığında destek tedavisi (57).

TEDAVİ	ENDİKASYON	DOZ
Sıvı replasmanı (kristalloid veya kolloid)	Sıvı açığı ve kısıtlı oral alım	
Platelet süspansiyon	Hemoraji ve trombositopeni	1 Ünite aferez trombosit veya 1 Ünite random trombosit/15 kg
	Klinik olarak anlamlı kanama varlığı (hematemez, melena, epistaksis gibi) ve platelet değeri < 50 000/mm^3	
	Platelet değeri < 10 000/mm^3 olan ateşi olmayan veya koagülasyon parametreleri normal olan hasta	
	Platelet değeri < 20 000/mm^3 olan ateş ya da sistemik hemostatik bozukluğu olan hasta	
	Platelet değeri < 50 000/mm^3 olan invaziv girişim yapılacak hasta	
Taze donmuş plazma	Sentez bozukluğu PT/INR normalin üst sınırının 1,5 katı veya aPTT normalin üst sınırı	10–15 mL/kg/gün, iki doza bölünmüş olarak
Sıvı replasmanı ve eritrosit süspansiyonu	Hemoraji	
Hızlı sıvı replasmanı (kristalloid veya sentetik kolloid) ve eritrosit süspansiyonu	Derece 4 Kan kaybı > %40 (> 2000 mL)	
Hızlı sıvı replasmanı (kristalloid veya sentetik kolloid) ve eritrosit süspansiyonu	Derece 3 Kan kaybı %30-40 (1500-2000 mL)	
Sıvı replasmanı (kristalloid veya sentetik kolloid), eritrosit süspansiyonu (anemide, devam eden kan kaybında veya kardiyak rezerv eksikliğinde)	Derece 2 Kan kaybı %15-30 (750-1500 mL)	
Eritrosit süspansiyon uygulaması gerekli değil (anemi hariç sekonder sıvı kaybı, kardiyak ve solunum komplikasyonları)	Derece 1 Kan kaybı < %15 (< 750 mL)	

Parasetamol	Ateş, ağrı	10 mg/kg, 4-6 saatlik aralıklarla
Antibiyotikler (karşılık gelen spektrumda)	Sekonder enfeksiyon (sepsis, pnömoni gibi)	
Hemodiyaliz	Böbrek yetmezliği Hiperpotasemi Şiddetli metabolik asidoz Üremik perikardit Sıvı yükü	
Mekanik ventilasyon	Solunum yetmezliği PAO_2 < 55 mm Hg (FIO_2 ≥ %60 O_2) $PACO_2$ > 45 mm Hg pH < 7.3	
PAO_2: Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı, FIO_2: Fraction of Inspired Oxygen, $PACO_2$: Parsiyel Arteriyel Karbondioksit Basıncı, pH: Potansiyel Hidrojen		

Ribavirin, in vitro ve in vivo olarak geniş spektrumlu antiviral aktiviteye sahip bir pürin nükleozid analoğudur. mRNA capping, RNA polimeraz inhibisyonu ve letal mutagenez gibi direkt etkilerinin yanı sıra inozin monofosfat dehidrogenaz inhibisyonu ve immünmodülasyon gibi indirekt etkileri de mevcuttur (58). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından KKKA hastalığı tedavisi için önerilen tek antiviral ilaçtır (5). Watts ve arkadaşları, Afrika yeşil maymun böbrek hücre hattı (Vero hücreleri) ile in vitro testlerle ribavirinin çeşitli KKKAV suşlarının replikasyonunu önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir (59). Bununla birlikte, ribavirinin tedavideki etkinliği ile ilgili klinik kanıtlar tutarsızdır ve araştırmacılar arasında tartışmalara neden olmuştur (60–62).

Favipiravir (T-705 olarak da bilinir), influenza virüsü enfeksiyonlarının tedavisi için Japonya'da lisanslıdır. *Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2* (SARS-CoV2), *Hantavirüs, Rift Vadisi ateşi virüsü* (RVFV) ve KKKAV dahil olmak üzere diğer yüksek patojenik RNA virüslerine karşı da umut vaat etmiştir (63–65). İki grup, tip I interferon eksikliği olan bir fare modelinde KKKAV'ye karşı favipiraviri değerlendirmiş ve her ikisi de favipiravir tedavisinin çeşitli dokularda viral replikasyonu etkili bir şekilde baskıladığını ve çeşitli KKKAV suş enfeksiyonlarını takiben mortaliteyi azaltabileceğini göstermiştir (66,67). Ayrıca, favipiravir ve

ribavirinin in vitro sinerjik etkiler gösterdiğini, her iki ilacın daha düşük dozlarının klinik etkinlikle in vivo olarak kullanılmasına izin verdiğini, kombine bir tedavinin yan etkilerden ziyade faydalı olduğunu düşündürdüğünü göstermiştir (67). Hawman ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, favipiravir, farelerin ölüm de dahil olmak üzere ileri hastalık sergilediği bir zaman noktası olan enfeksiyondan altı gün sonra uygulandığında bile klinik fayda göstermiştir (66). Daha ileri çalışmalar, favipiravirin bir cynomolgus makak modelinde KKKAV enfeksiyonuna karşı terapötik etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir (68). Genel olarak, bu veriler favipiravirin KKKA tedavisi için etkili bir antiviral olabileceğini düşündürmektedir.

2′-deoksi-2′-florositidin (2′-floro-2′-deoksisitidin, 2′-dFC olarak da bilinir) bileşiğinin, inhibitör aktivitesi in vitro olarak favipiravir ve ribavirininkinden daha üstün potansiyel bir antiviral olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, 2′-dFC'nin, sitotoksisiteye neden olmadan KKKAV replikasyonunu inhibe etmek için favipiravir ile sinerjik olarak hareket ettiği ve bunun potansiyel 2′-dFC ile favipiravir kombinasyon tedavisini düşündürdüğü gösterilmiştir (69). Bununla birlikte, 2′-dFC'nin KKKAV enfeksiyonunun hayvan modellerinde nasıl performans gösterdiği belirsizliğini korumaktadır.

KKKAV, hücrelere klatrin bağımlı endositoz yoluyla girer ve bu da enfeksiyonlar için tedavinin potansiyel hedefi olabilir. Ferraris ve arkadaşları, endositik yolları hedef alan FDA onaylı moleküllerin anti-KKKAV aktivitesini araştırmıştır. İn vitro antiviral testlerde, klatrin / pH bağımlı endositik yola müdahale eden klorokin ve klorpromazin, KKKAV için potansiyel antiviral ilaçlar olarak tanımlanmıştır (70). Bu iki FDA onaylı ilacın KKKAV enfeksiyonuna karşı etkinliği, hayvan modelleri çalışmalarıyla doğrulanmalıdır.

Doğuştan gelen immün yanıt, memeli hücrelerinde viral enfeksiyonlara karşı ilk konakçı savunma hattıdır (71). Önceki çalışmalar, KKKAV enfeksiyonunun, tip I IFN'lerin (özellikle IFN-α ve IFN-β), önemli ölçüde salgılanmasına ve ardından interferon ile uyarılmış genlerin (ISG'ler) yukarı regülasyonuna neden olduğunu göstermiştir (1,72). Andersson ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, IFN-α ile ön tedavinin, büyük olasılıkla myxovirus resistance protein 1 (MxA) gibi ISG'lerin indüksiyonuna bağlı olarak, in vitro KKKAV'ye karşı antiviral aktiviteye sahip olduğu

gösterilmiştir (73,74). Bununla birlikte, virüs, enfeksiyon geliştikten sonra, IFN-α ile tedaviye neredeyse duyarsızdır. Son zamanlarda, Bordi ve arkadaşları tip III IFN'nin (IFN-λ1) de bir anti-KKKAV aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir, ancak tip I IFN (IFN-α) ile karşılaştırıldığında daha az etkili görünmektedir (75).

Konvelesan serum, KKKA'da küçük çalışmalarda bazı klinik faydalar göstermiştir. Farelerde yapılan aşı çalışmaları, antikorların KKKAV enfeksiyonunu önlemede önemli bir rol oynadığını göstermiştir (76,77). Donörlerin plazma havuzundan türetilen spesifik insan immünoglobulini (CCHF-Venin), Bulgaristan'daki yedi KKKA hastasında test edilmiş ve iyi terapötik etkiler göstermiştir (78). Bununla birlikte, konvelesan serumunun etkinliği, büyük örneklem büyüklüklerine sahip randomize kontrollü klinik çalışmalarda değerlendirilmemiştir. Hiçbir çalışma, maruziyet sonrası profilaksi veya KKKA tedavisi için spesifik immünoglobulinin etkinliğini kanıtlamamıştır. Sınırlı kaynaklar, bireysel farklılıklar ve kan ürünlerinin karmaşıklığı gibi konvelesan serumunun benimsenmesini zorlaştıran bir takım engeller hala vardır (5).

Monoklonal antikorlar, donörlerden alınan konvelesan serum ile karşılaştırıldığında, yüksek özgüllüğe, düşük immünojenisiteye ve sınırlı metabolik yan etkilere sahiptir. Etkili bir tedavinin geliştirilmesi için umut verici bir terapötik yaklaşımı temsil etmektedir. Bu tedavi seçeneği henüz yeni gelişim dönemindedir (5).

Terapötik plazma değişiminin (TPE) etkinliği Türkiye'den yapılan bir çalışmada incelenmiştir. TPE'nin ağır KKKA hastalarında etkili olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. TPE'nin etkinliğini değerlendirmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (79).

2.1.12. Korunma ve Kontrol

Hastalıktan korunmada en önemli yol kenenin aktif olduğu ilkbahardan sonbahara kadar olan dönemde kene popülasyonunun yoğun olduğu alanlardan uzak durmaktır. Zorunlu durumlarda bireylerin kendi koruma önlemlerini almaları önerilmektedir. Kıyafetlerin ve derinin düzenli olarak kene açısından kontrolü yapılmalı ve kene tutunmasının olması durumunda kene bir bütün olarak çıkarılmalıdır. Kimyasal maddelerin kullanımı kenenin kusmasına ve daha fazla virüsün bulaşmasına yol açacağından kene çıkarılırken bu tür maddelerin

kullanımından kaçınılmalıdır (80).

Hastaların hastanede yatışlarında kan ve vücut sıvıları ile direkt temas sonrası hastane içi yayılım görülebilir. Laboratuvar çalışanlarına da enfeksiyon bulaşabilir ki nozokomiyal enfeksiyon ciddi ve fatal seyirlidir. Kontamine iğne batması gibi penetran yaralanmaların ve mukozal temasın bulaş yönünden daha yüksek risk taşıdığı saptanmıştır. Mutlaka eldiven, uzun önlük, maske ve gözlük kullanma gibi bariyer önlemleri alınmalıdır. Basit bariyer önlemlerinin etkili olduğu bildirilmiştir. KKKA saptanmış bir hastadan eline iğne batması veya hasta bakımında yakın temas gibi yüksek riskli durumlarda ribavirinle profilaksi önerilir (45,81).

KKKA için onaylanmış bir aşı bulunmamakla birlikte birçok aşı çalışması devam etmektedir (82).

2.2. İnterferonlar ve İnterferon Regülatör Faktörler

2.2.1. İnterferonlar

IFN'ler 1957 yılında Isaacs ve Lindenmann tarafından hücre kültürlerinde virüs replikasyonunu inhibe edebilen çözünür proteinler olarak keşfedilmiştir. Tip I (IFN-I), tip II (IFN-II) ve tip III (IFN-III) olmak üzere 3 tip IFN vardır (83).

Tüm IFN sınıflarına ait IFN'ler viral enfeksiyonla mücadelede çok önemlidir. İnsanlarda, IFN-I; IFN-α alt tiplerini, IFN-β, IFN-ε, IFN-κ ve IFN-ω'yi içerir. İmmünolojik açıdan bakıldığında, IFN-α ve IFN-β ilgilenilen başlıca IFN-I alt tipleridir. Her ikisi de viral enfeksiyona yanıt olarak vücudun hemen hemen her hücresi tarafından üretilir ve önemli antiviral özellikleri paylaşır. IFN-α ailesi, insanlarda 13'ten fazla intronsuz gen tarafından kodlanan multigenik bir homolog polipeptit grubudur. IFN-β, aksine, çoğu türde tek bir gen olarak bulunur. IFN-γ tek IFN-II'dir. Bu sitokin, IFN-I ile belirgin yapısal homolojiye sahip değildir ve ayrıca 2 farklı alt birimden (IFNGR1 ve IFNGR2) oluşan farklı bir hücre-yüzey reseptörüne (IFNGR) bağlanır. Yakın zamanda sınıflandırılan IFN-III, 3 IFN-λ molekülünden (IFN-λ1, IFN-λ2 ve IFN-λ3) oluşur ve interlökin-10 reseptörü 2 alt biriminden (IL-10R2) ve IL-28 reseptör alfa alt biriminden (IL-28Rα) oluşan bir reseptör kompleksi aracılığıyla sinyal verir (84).

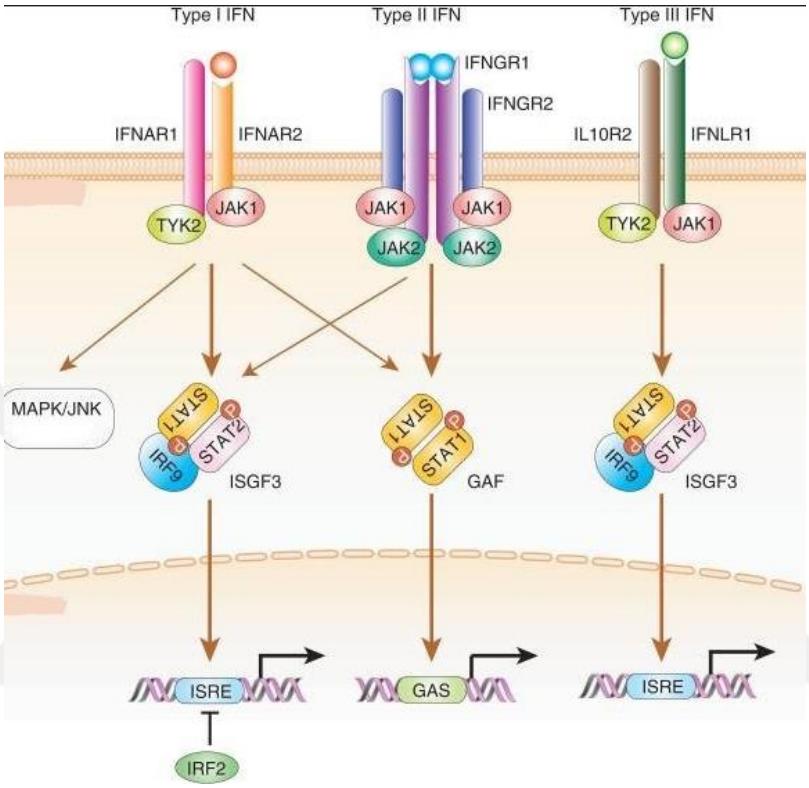
IFNα ve IFNβ, IFNAR1 ve IFNAR2 alt birimlerinden oluşan IFNα reseptörü (IFNAR) olarak adlandırılan heterodimerik bir transmembran reseptörüne bağlanır. Tip I IFN kaynaklı sinyal yolunda, IFNAR angajmanının, reseptör ile ilişkili protein tirozin kinazları Janus kinaz 1 (JAK1) ve tirozin kinaz 2'yi (TYK2) aktive ettiği gösterilmiştir (85). Bu JAK'ların aktivasyonu, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 1 ve 2'nin (STAT1 ve STAT2) tirozin fosforilasyonuna neden olur ve bu da STAT1, STAT2 ve IRF-9'dan oluşan IFN ile indüklenebilir gen faktörü 3 (ISGF3) adı verilen bir trimerik kompleksin oluşumuna yol açar (86). ISGF3, çekirdeğe translokasyonda, gen transkripsiyonunu başlatmak için ISG'lerin gen promotörlerinde IFN ile indüklenmiş yanıt elemanlarını (ISRE'ler) bağlayan bir transkripsiyonel aktivatördür. Öte yandan, çekirdekte lokalize olan IRF-2, ISGF3 aracılı transkripsiyonel aktivasyonun transkripsiyonel zayıflatıcısı olarak işlev görür; Bu nedenle, IRF-2'nin yokluğu aşırı tip I IFN sinyallemesine neden olur (87). IFNAR aktivasyonu ayrıca, IFN-γ aktive edilmiş sekans (GAS) motiflerini bağlayan ve aktive eden STAT1 homodimerlerinin aktivasyonu ile sonuçlanır ve gen transkripsiyonunun indüksiyonuna yol açar. Daha az karakterize edilmesine rağmen, tip I IFN sinyalizasyonu ayrıca mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) / c-Jun amino-terminal kinaz (JNK) yolaklarının sinyalleşmesini de indükleyebilir (88).

Tip II IFN veya IFN-γ, IFN genlerinin diğer iki sınıfıyla yapısal olarak ilgisizdir ve en iyi aktive edilmiş doğal öldürücü hücreler (Natural Killer-NK) ve T-hücresi yanıtları sırasında salgılanan kritik bir sitokin olarak bilinir (89). Ayrıca, IFN-γ, interferon gama reseptör 1 ve 2 (IFNGR1 ve IFNGR2) alt birimlerinden oluşan farklı bir hücre-yüzey reseptörüne bağlanır ve bunlar sırasıyla JAK1 ve JAK2 ile ilişkilidir. Bu kinazların aktivasyonu, GAS Deoksiribo nükleik asit (DNA) dizilerini hedef alan STAT1 homodimerizasyonu ve nükleer translokasyon ile sonuçlanır. ISGF3 zayıf da olsa IFN-γ sinyalizasyonu ile aktive edilebilir (90).

Tip III IFN veya IFN-λs, en az karakterize edilen IFN ailesidir. Yapısal olarak tip I IFN'ler ve IL-10 ailesi ile ilişkilidir (91,92). Bu aile IFN-λ1 (IL-29), IFN-λ2 (IL-28A) ve IFN-λ3'ü (IL-28B) içerir. IFN-λs, IL-10 sitokin ailesi ile paylaşılan bir IL-28R bağlanma zinciri ve IL-10R2'den oluşan heterodimerik bir sitokin reseptörüne bağlanır. Tip I IFN'lere benzer şekilde, tip III IFN reseptörü sinyal kaskadı, JAK1 ve TYK2'nin reseptör kompleksini çapraz tirozin fosforilasyonu için aktivasyona neden

olur, bu da STAT1 ve STAT2'nin ISG'leri aktive eden ISGF3 transkripsiyon faktörü kompleksini oluşturmasına neden olur (92).

Üç tip IFN için sinyal iletim yollarının şematik bir görünümü Şekil 2.7'de gösterilmiştir.



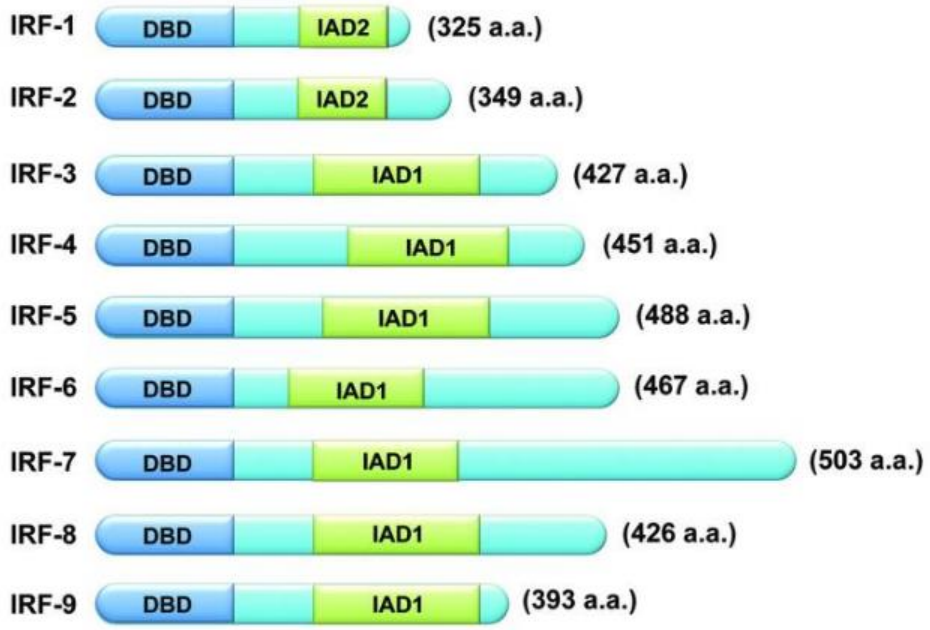
Şekil 2.7. Tip I, tip II ve tip III IFN reseptörleri ile sinyal iletimi (89)**.**

2.2.2. İnterferon Regülatör Faktörler

IRF transkripsiyon faktörleri ailesi, IFN yanıtlarının altında yatan gen ekspresyonunun düzenlenmesine katılımı ile bilinir. Memelilerde IRF-1, IRF-2, IRF-3, IRF-4 / PIP / LSIRF / ICSAT, IRF-5, IRF-6, IRF-7, IRF-8 / ICSBP ve IRF-9 / ISGF3γ olmak üzere dokuz IRF proteini vardır (93). Ek olarak, IRF-10 kuşlarda ve teleost balıklarında bulunur, ancak insanlar ve farelerde yoktur (94).

IRF'lerin keşfi, IFN β kodlayan geninin virüs kaynaklı bir arttırıcı elemanına bağlanan fare proteinini kodlayan bir cDNA klonunun tanımlandığı 1988 yılına kadar uzanmaktadır. Bu dönemde, bu gen ile bilinen diğer proteinler arasında anlamlı bir homoloji tanımlanmamış ve bu nedenle gen IRF-1 olarak adlandırılmıştır. IRF-2 olarak adlandırılan IRF-1 cDNA'ya çapraz hibridize olan bir cDNA klonunun daha

sonra tanımlanması, IRF ailesinin tanınmasını sağlamıştır. Bu proteinlere IRF'ler olarak atıfta bulunmak geleneksel hale gelmesine rağmen, bazıları başlangıçta IRF-4 için PIP / LSIRF / ICSAT, IRF-8 için ICSBP ve IRF-9 için ISGF3γ gibi farklı isimlendirmeler kullanmıştır (95).



Şekil 2.8. İnsan IRF aile üyelerinin şematik gösterimi (95)**.**

İnsan IRF aile üyelerinin şematik gösterimi Şekil 2.8'de gösterilmiştir. Hepsi *Kaposi sarkomu ile ilişkili herpes virüsü* (KSHV) tarafından kodlanmıştır. Uzunluk (amino asit cinsinden) bildirilmiştir. IRF ailesi üyeleri, nispeten iyi korunmuş triptofan bakımından zengin beş tekrarla karakterize edilen bir N-terminal DNA bağlama alanına (DBD) sahiptir. IRF-1 ve IRF-2 dışındaki tüm IRF ailesi üyeleri bir IRF ilişkilendirme etki alanı 1 (IAD1) içerir. IRF-1 ve IRF-2, yapısal olarak IAD1'den farklı olan başka bir IRF ilişkilendirme etki alanını (IAD2) paylaşır. IRF-3 ve IRF-7, viral enfeksiyon üzerine, serin / treonin kinazlar TANK bağlayıcı kinaz 1 (TBK1) ve IκB kinaz ε (IKKε) tarafından fosforilasyon için substratlar olan birden fazla bölgeye sahiptir. IRF-3 ve IRF-7'nin nükleer translokasyonu için bu bölgelerde fosforilasyon gereklidir (95).

DBD bir sarmal-dönüş-sarmal yapı oluşturur. ISRE olarak bilinen DNA dizisini tanır (96,97). IRF'lerin C-terminal bölgesi daha az iyi korunmuştur ve her

IRF'ye belirli faaliyetler kazandırmak için belirli bir IRF'nin diğer aile üyeleri, diğer transkripsiyonel faktörler veya kofaktörlerle etkileşimlerine aracılık ettiği varsayılmaktadır. IRF'lerin C-terminal bölgesinde IAD1 ve IAD2 olmak üzere iki tür ilişkilendirme modülü tanımlanmıştır. Bu alanlar tarafından dikte edilen protein-protein etkileşimlerinin doğası, ortaya çıkan kompleksin transkripsiyonel bir aktivatör veya baskılayıcı olarak işlev görüp görmediğini belirlemektedir (98).

2.2.3. IRF'ler Tarafından Doğuştan Gelen Bağışıklık Yanıtlarının Düzenlenmesi

Patojenlerin tespiti, konakçı bağışıklık sisteminin önemli bir fonksiyonudur. Patern tanıma reseptörleri (PRR'ler) adı verilen germline kodlu reseptörlerin sınırlı bir repertuarı, bakteri ve virüsler gibi potansiyel patojenlerde bulunan değişmez patojenle ilişkili moleküler kalıpları (PAMP'ler) tanımak için kullanılır (99). Şimdiye kadar, iki geniş PRR sınıfı tanımlanmıştır. Bunlar; sitozolik PRR'ler ve membrana bağlı Toll benzeri reseptörler (TLR'ler) dir (100). Patojenin ve konakçı hücre tipinin doğasına bağlı olmasına rağmen, PRR'lerin PAMP tarafından bağlanması tipik olarak tip I IFN'lerin, proinflamatuar sitokinlerin ve kemokinlerin ekspresyonuyla sonuçlanır. Reseptör aktivasyonu ve gen indüksiyonunu birbirine bağlayan hücresel sinyal yollarından nükleer faktör-κB (NF-κB), hemen hemen tüm PRR'ler tarafından aktive edilen en önemli sinyal yollarından biridir (101). IRF'lerin immün yanıttaki rollerinin bir özeti Tablo 2.2'de ifade edilmiştir.

Tablo 2.2. IRF'lerin immün yanıttaki rollerinin özeti (101).

IRF	**İmmün Yanıtlardaki Rolleri**	**Hedef Genler Tarafından Kodlanan Proteinler**
IRF-1	IFN ile indüklenebilir genin ekspresyonunu uyarır	GBP, iNOS, Kaspaz-1, Cox-2, CIITA, TAP1 ve LMP2
	MyD88'e bağlanır ve IFN-y ile işlenmiş hücrelerde TLR'ye bağlı gen indüksiyonunu arttırır	IFN-β, iNOS, IL-12p35 ve IL-12p40
IRF-2	IRF-1 ve IRF-9'u antagonize ederek tip I IFN yanıtlarını zayıflatır	Birçok IFN ile indüklenebilir geni baskılar IL-12p40 ve Cox-2
	Bazı durumlarda, transkripsiyonu etkinleştirmek için IRF-1 ile işbirliği yapar	

IRF-3	Virüs enfeksiyonu, TLR stimülasyonu ve sitozolik DNA stimülasyonu üzerine tip I IFN'leri ve kemokinleri indükler	IFN-α4, IFN-β ve CXCL10
IRF-4	MyD88'e bağlanır ve proinflamatuar sitokin genlerinin TLR'ye bağlı indüksiyonunu negatif olarak düzenler	IL-12p40, IL-6 ve TNF-α gibi sitokin genlerinin indüksiyonunu dolaylı olarak baskılar
IRF-5	MyD88'e bağlanır ve proinflamatuar sitokin genlerinin TLR'ye bağlı indüksiyonunu pozitif olarak düzenler	IL-12p40, IL-6 ve TNF-α
	Virüs enfeksiyonu üzerine tip I IFN'leri ve proinflamatuar sitokinleri indükler	Tip I IFN'ler, IL-6 ve TNF-α
IRF-6	Bilinmiyor, ancak poli(rI:rC) tedavisi üzerine sitoplazmadan çekirdeğe yer değiştirir	
IRF-7	MyD88'e bağlanır ve TLR sinyali üzerine tip I IFN'leri indükler	Tip I IFN'ler
	Virüs enfeksiyonu üzerine tip I IFN'leri indükler	
IRF-8	TRAF6'ya bağlanır ve DC'lerde TLR9 sinyali için gereklidir	
	IFN-γ- ve PAMP ile indüklenebilir genleri uyarır	IL-12p40, iNOS, PML ve diğerleri
	Dentritik hücrelerde tip I IFN üretimini teşvik eder	Tip I IFN'ler
IRF-9	ISGF3 oluşturmak için STAT1 ve STAT2'ye bağlanır ve tip I IFN ile indüklenebilir genleri uyarır	OAS, PKR, IRF-7 ve diğerleri

GBP: Guanilat bağlayıcı proteinler, iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz, IL: İnterlökin, Cox-2: Siklooksijenaz-2, CIITA: Sınıf II transaktivatör, TAP1: Transporter associated with antigen processing 1, LMP2: Latent membran protein 2, CXCL10: IFN-γ indüklenebilir protein 10, PML: Promiyelositik lösemi protein, OAS: Oligoadenilat sentaz, PKR: Protein kinaz-R, Myd88: Miyeloid farklılaşma primer yanıt proteini 88, IFN: İnterferon, TLR: Toll benzeri reseptör, IRF: İnterferon regülatör faktör, DC: Dentritik hücre, TLR: Toll benzeri reseptör, TRAF6: TNF reseptörü ile ilişkili faktör 6, PAMP: Patojenle ilişkili moleküler kalıp, ISGF3: IFN ile indüklenebilir gen faktörü 3, STAT: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü

Sitozolik PRR Sinyalizasyonunda IRF'ler

İki RNA helikaz enzimi, retinoik asit ile indüklenebilir gen-I (RIG-I) ve melanom farklılaşması ile ilişkili gen 5 (MDA5), RNA'nın, özellikle de açılmamış 5′-trifosfat RNA ve poli (rI: rC) dahil olmak üzere çift sarmallı RNA'nın (ds RNA'nın) tespiti için gerekli sitozolik reseptörlerdir (102). Her iki helikaz da viral RNA'nın saptanmasından sorumlu bir C-terminal DExD / H kutusu RNA helikaz alanının yanı sıra sinyal yollarını aktive eden iki N-terminal kaspaz aktivasyon güçlendirme alanı (CARD) içerir. Viral RNA'nın RIG-I veya MDA5 tarafından algılanmasını aşağı akış sinyallemesine bağlayan adaptör molekülü IFNB-promoter stimülatörü 1'dir (IPS-1, VISA, MAVS veya Cardif olarak da bilinir) (100). IPS-1, aşağı akış sinyalini iletmek için RIG-I ve MDA5'in CARD'larıyla CARD-CARD etkileşimlerine aracılık eden bir N-terminal CARD etki alanı içerir. IPS-1, RIG-I ve MDA5'ten gelen sinyalleri, IRF-3 ve IRF-7'yi fosforile ettiği bilinen TBK 1'e ve IKKε inhibitörüne iletir (103).

IRF-3 ve IRF-7, en büyük sekans homolojisine sahip iki IRF'dir. Bu iki IRF, RIG-I / MDA5 aracılı tip I IFN gen indüksiyon yolu için gereklidir. IRF-3 ve IRF-7 başlangıçta enfekte olmamış hücrelerin sitozolünde gizli formda bulunur. Virüs enfeksiyonu üzerine, RIG-I veya MDA5 ile aktive edilmiş TBK 1, karboksi terminal (C terminal) düzenleyici bölgesinin 2. bölgesinde Ser396, 398, 402, 404 ve 405'te IRF3'ü fosforile eder, bu da otomatik inhibisyonu hafifletir ve IRF-3 nükleer translokasyonuna ve koaktivatör CREB bağlayıcı protein (CBP) ile etkileşime izin verir. CBP daha sonra düzenleyici bölge içindeki 1. bölgede Ser385 veya Ser386'nın fosforilasyonunu kolaylaştırır ve IRF dimerizasyonuna izin verir (104). IRF-7'yi içeren benzer bir mekanizmanın meydana geldiği varsayılmaktadır. Sonuç olarak, çekirdekte homodimer veya heterodimer olarak dimerize IRF-3 ve IRF-7 içeren bir holokompleks ve CBP/p300 gibi koaktivatörler oluşur (105). Bu holokompleks, tip I IFN genlerinin promotörleri içindeki ISRE DNA dizilerini hedefler.

Ek olarak, IRF-5 ayrıca RIG-I sinyal yolunda da yer almaktadır (106,107). IRF-5, *Veziküler stomatit virüsü* (VSV) veya *Newcastle hastalığı virüsü* (NDV) enfeksiyonunda sitoplazmadan çekirdeğe translokasyon yapar (106,108). Gerçekten de, IRF5 $^{-/-}$ fareler, bu RNA virüsleriyle mücadele ettiğinde tip I IFN'nin serum seviyelerinde bir azalma göstermektedir. Dahası, IRF5 $^{-/-}$ fareler VSV enfeksiyonuna

karşı oldukça savunmasızdır ve IL-6 ve TNF-α gibi proinflamatuar sitokinlerin azalmış seviyelerini göstermektedir (106,107). IRF-5'in RIG-I tarafından aktive edildiği kesin mekanizma ve IRF-5'in tip I IFN ve proinflamatuar genlerin transkripsiyonel düzenlemesine katkısının doğası tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, IRF-3 ve IRF-7 gibi, IRF-5 de TBK 1 tarafından fosforile edilebilir (109).

IRF-8, virüs ile uyarılan dendritik hücrelerde (DC) tip I IFN indüksiyonu için gereklidir. IRF-8, tip I IFN genlerinin transkripsiyonel regülasyonunda rol oynuyor gibi görünmektedir; IRF-8, IFN-α / β genlerinin promotörlerine bağlanır ve IFN transkripsiyonunun ikinci, güçlendirici aşaması için gereklidir (110).

Sitozolik DNA Aracılı Sinyallemede IRF-3 ve IRF-7

Son zamanlarda, sitozolik RNA algılama mekanizmalarına ek olarak, koruyucu ve patolojik immün yanıtları da uyarabildikleri için sitozolik DNA algılama sistemleri karakterize edilmeye çalışılmıştır. Gerçekten de, *Listeria monocytogenes'*ten bakteriyel genomik DNA'nın sitoplazmik tanınması, TBK 1-IRF-3 yoluyla IFN-β indüksiyonu ile sonuçlanır (111). Ayrıca, poli(dA-dT)·poli(dT-dA) (bundan böyle B-DNA olarak anılacaktır) gibi sentetik dsDNA'lı hücrelerin transfeksiyonu, tüm TLR sinyallerinin yokluğunda tip I IFN'nin indüklenmesiyle sonuçlanır (111,112). Bu gözlemler, tip I IFN genlerinin indüksiyonu da dahil olmak üzere doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini bağımsız olarak başlatabilen bir sitozolik DNA sensörünün (sensörlerinin) varlığını göstermektedir. B-DNA stimülasyonu, IRF-3 ve NF-κB sinyal yollarının aktivasyonu ile sonuçlanır (112).

DLM-1 veya Z-DNA bağlayıcı protein 1 (ZBP1) olarak da bilinen IRF'lerin DNA'ya bağımlı aktivatörü (DAI) adı verilen bir aday DNA sensörü tanımlanmış ve karakterize edilmiştir (113). Daha yeni çalışmalar, sitozolik DNA aracılı doğuştan gelen immün yanıtları pozitif veya negatif olarak düzenleyen ek DNA sensörlerinin varlığını göstermektedir (114,115). Ek olarak, interferon genlerinin uyarıcısı (STING)/IRF-3 aktivasyonunun aracısı (MITA) olarak adlandırılan yeni bir adaptör protein bildirilmiştir (116,117). Çalışmalar, STING/MITA'nın IPS-1'i TBK 1'e bağlayan bir adaptör olarak işlev gördüğünü ve sitozolik DNA aracılı sinyallemeyi takiben IRF-3'ün aktivasyonunu göstermektedir.

TLR Sinyalizasyonunda IRF'ler

Bugüne kadar; bakteri, virüs, mantar ve protozoadan türetilen çeşitli PAMP'leri tanıyan ve proinflamatuar ve tip I IFN genlerinin indüksiyonu da dahil olmak üzere bağışıklık tepkilerini tetikleyen 13 farklı TLR (insanlarda 10 ve farelerde 12) tanımlanmıştır (118,119). Sitozolik reseptörlerden farklı olarak, TLR'ler, NF-κB ve IRF transkripsiyon faktörlerini aktive etmek için adaptör proteinleri TRIF (TIR-etki alanı içeren IFN'yi indükleyen adaptör proteini ve ayrıca TICAM1 olarak da adlandırılır) veya MyD88 (miyeloid farklılaşma primer yanıt proteini 88) kullanan membrana bağlı reseptörlerdir (101).

TRIF'e Bağımlı Yolda IRF-3 ve IRF-7

Hem TLR-4 hem de TLR-3, tip I IFN'yi indüklemek ve IRF-3'ü aktive etmek için TRIF adaptör proteinini kullanır (100,120). TLR-4, lipopolisakkariti gram-negatif bakterilerden ve *Solunum sinsityal virüs* ve *Moloney murin lösemi virüs'*ü F (füzyon) proteininden tanıyan bir hücre yüzey reseptörüdür (100). Zayıf da olsa, TLR-4 sinyallemesi IFN-β ve IFN-α4'ü kodlayan genlerin indüksiyonu ile sonuçlanır, ancak diğer IFN-α genleri kodlamaz (121,122).

TLR-3, endozomların ve fagozomların zarları içinde bulunur ve sentetik dsRNA analog poli (rI: rC) 'ye ek olarak, muhtemelen dsRNA virüslerinden veya tek zincirli RNA (ssRNA) virüslerinden replikasyon ara ürünleri olarak türetilen viral dsRNA'yı tanır (100,123). TLR-3 ayrıca bazı DNA virüsleri (*Murin sitomegalovirüs* ve *Herpes simpleks virüsü* gibi) veya parazitlerin yapmış olduğu enfeksiyona karşı savunmada rol oynar, bu da dsRNA dışındaki ligandların TLR-3 tarafından da tanınabileceğini düşündürmektedir (124–127). TLR-3'ün aktivasyonu, TLR-4 gibi, TRIF ve TBK 1'e bağımlı bir sinyal yolu aracılığıyla tip I IFN ekspresyonunu indükleyebilir. IRF-3 bu indüksiyonda önemli bir rol oynar (128,129).

MyD88'e Bağımlı Sinyal Yolundaki IRF-7

Plazmasitoid dendritik hücreler (pDC'ler), IFN-α/β masif ekspresyonları ile tanımlanır. Geleneksel DC'lerin aksine, endozomlarda yüksek miktarda TLR-7 ve TLR-9 ekspresyonu gösterir. TLR-7 ve TLR-9 için ligandlara yanıt olarak, pDC'ler büyük miktarlarda tip I IFN'ler serbest bırakır. TLR-7, ssRNA virüslerinin genomik

ssRNA'sına bağlandıktan sonra aktive olurken, TLR-9, bakteri ve DNA virüslerinde bulunan metillenmemiş CpG DNA motiflerine yanıt verir. TLR-9 ve TLR-7, sinyal adaptörü olarak yalnızca MyD88'i kullanır (100).

TLR Sinyalizasyonunda IRF-5

IRF-7'ye ek olarak, IRF-5 ayrıca MyD88 ve TNF reseptörü ile ilişkili faktör 6 (TRAF6) ile etkileşime girer. MyD88'in ölüm alanına bağlanan IRF-7'nin aksine, IRF-5, MyD88'in merkezi bölgesi ile etkileşime girer. TLR-9 aktivasyonuna yanıt olarak, IRF-5 sitoplazmadan çekirdeğe translokasyon yapar ve burada hedef genlerin promotörleri içindeki ISRE'lere bağlanır (101).

MyD88 Sinyal Yolunda IRF-1

IRF-1 ayrıca MyD88'in merkezi bölgesi (aracı etki alanı) ile doğrudan etkileşime girer (130). Tip II IFN (IFN-γ) IRF-1 transkripsiyonunu güçlü bir şekilde indüklemesine rağmen, IRF-1'i tamamen aktive etmek için yetersizdir. Bunun yerine, TLR-9 katılımı, IRF-1'in çekirdeğe MyD88 ile ilişkili olmayan IRF-1'den daha verimli bir şekilde geçiş yapmak için çeviri sonrası olarak değiştirildiği MyD88'e bağımlı bir "IRF-1 lisansı" olayının gerçekleşmesine neden olur. IRF-1, TLR'ye bağımlı bir gen indüksiyon programının IFN-γ geliştirmesi için kritik öneme sahiptir (101).

TLR Sinyalizasyonunda IRF-4

Çalışmalar, TLR sinyallemesinin negatif geri besleme düzenlemesinde IRF-4'ün rolünü göstermiştir. TLR aktivasyonu üzerine, IRF-4 mRNA indüklenir ve IRF-4 proteini esas olarak çekirdekte lokalize olur. Bununla birlikte, MyD88 ile birlikte lokalize olduğu sitoplazmada da önemli bir fraksiyon mevcuttur. IRF-4, IRF-5'in bağlandığı MyD88'in aynı bölgesine bağlandığından, TLR kaynaklı IRF-4, IRF-5'in sürekli aktivitesi ile rekabet edebilir ve inhibe edebilir. IRF-4'ün ekspresyonu bağışıklık hücreleri, özellikle B hücreleri, T hücreleri, makrofajlar ve DC'ler ile sınırlı olduğundan, MyD88'e bağımlı gen regülasyonunu hücre tipine özgü bir şekilde seçici olarak kontrol edebilir (101,131).

2.2.4. Viral Enfeksiyonlar ve IRF'ler

Birçok virüs, konakçı bağışıklık tepkisinin aktivitesine karşı koymak için mekanizmalar geliştirmiştir. IRF'lerin bağışıklık sistemi üzerindeki çeşitli ve güçlü

etkileri göz önüne alındığında, bu transkripsiyon faktörlerinin ve aktivasyon yollarının viral bağışıklık bozukluğunun hedefi olması şaşırtıcı değildir (101).

Hepatit C virüsü (HCV), IPS-1 ve TRIF'i parçalayan yapısal olmayan proteinler 3 ve 4A (NS3/4A) proteazını kodlar, böylece HCV enfeksiyonu sırasında IRF-3 ve/veya IRF-7'nin aktivasyonunu inhibe eder (132). *Rotavirüs* yapısal olmayan protein 1 (NSP1), IRF-3, IRF-5 ve IRF-7'nin bozulmasına aracılık eder (133). *İnsan herpes virüsü 8* (HHV8), IRF-3 ubikitinasyonunu ve proteazom aracılı bozunmayı destekleyen bir ubikitin E7 ligazını kopyalayan replikasyon ve transkripsiyon aktivatörünü (RTA) kodlar (134). Ayrıca, HHV8 üç viral IRF (vIRF), vIRF-1, vIRF-2 ve vIRF-3/gecikme ile ilişkili nükleer antijen 2 (LANA2), kümesini kodlar (93). Tüm vIRF'ler, N-terminal bölgelerinde IRF'lerin DNA bağlanma alanına homoloji gösterir. Fakat DNA bağlanması için gerekli olan triptofan kalıntılarının birçoğundan yoksundur. Bu nedenle, hücresel konakçı IRF'lerin aksine, DNA'ya doğrudan bağlanamadığı varsayılmaktadır. Kesin mekanizması açıklığa kavuşturulmamış olmasına rağmen, vIRF-1'in geçici bir transfeksiyon testinde tip-I IFN genlerinin virüs aracılı indüksiyonunun bir baskılayıcısı olarak işlev gördüğü bilinmektedir (135,136). Ek olarak, vIRF-2 ve vIRF-3/LANA2, konakçı IRF'lerle girişim içerebilecek IFN genlerinin promotörlerinin aktivasyonunu inhibe eder. Gerçekten de, vIRF-3 / LANA2, IRF-7 ve IRF-5'in DNA bağlanma aktivitesine bağlanır ve inhibe eder (137,138).

Bu viral proteinlerin viral enfeksiyonların kalıcılığına katkıda bulunduğu varsayılmakla birlikte, virüs kaynaklı karsinogenez için de risk faktörleridir. *Epstein-Barr virüsü* (EBV) çeşitli insan kanserleri ile ilişkilendirilmiştir (139). EBV ile kodlanmış latent membran proteini 1 (LMP-1), B lenfositlerini çoğalan bir lenfoblastoid hücre hattına dönüştüren viral proteindir. LMP-1'in IRF-7 ekspresyonunu indüklediği ve IRF-7'yi reseptör etkileşimli protein 1 (RIP-1) ve TRAF6 yoluyla aktive ettiği gösterilmiştir (140,141).

Human papilloma virüsü (HPV) servikal displazi ve serviks kanseri etiyolojisinde etken bir ajandır (142). HPV'nin yüksek riskli tipleri (HPV-16 ve HPV-18), hücresel tümör baskılayıcı proteinleri inaktive eden iki viral onkogen, E6 ve E7'yi kodlar. E6 proteini p53'e bağlanır ve proteolizini teşvik ederken, E7 proteini

retinoblastom tümör baskılayıcı proteinin (Rb'nin) hipofosforile formuna bağlanır ve E2F'ye bağlanmasına müdahale eder (143). Ayrıca, bu HPV onkoproteinleri IRF ailesi üyelerini de hedef alır ve faaliyetlerini inhibe eder. E6 ve E7 onkoproteinleri, sırasıyla IRF-3 aracılı tip I IFN gen indüksiyonuna ve IRF-1 aracılı antionkojenik aktiviteye müdahale eder, böylece servikal tümör gelişimine karşı konakçı bağışıklığının üstesinden gelir (144,145).

2.2.5. Viral Hemorajik Ateş ve IRF'ler

Tip I IFN yanıtı, konakçı hücrede antiviral bir durum oluşturmak ve ardından adaptif immün yanıtların aktivasyonu için kritik öneme sahiptir. Birçok viral kodlanmış komponent, Tip I IFN yanıtlarını hedef alır ve bu immün baskılanma, viral replikasyon ve patogenez için önemlidir. Örneğin, *Ebolavirüs* VP35, viral RNA'nın RIG-I benzeri reseptörler tarafından tespit edilmesinden izole edilmesine ek olarak, IRF-3/7'nin TBK-1 / IKKε kinazları tarafından fosforilasyonunu inhibe eder (146).

Dang virüs enfeksiyonunun fare modellerinde yapılan çalışmasında, IRF-7, ilk IFN-α/β yanıtını indüklemede IRF-3'ten daha önemli bir rol oynamış; erken enfeksiyonun etkin kontrolü için sadece IRF-3 ve IRF-7'nin kombine etkilerinin gerekli olduğu sonucuna ulaşılmıştır (147).

2.2.6. IRF'ler Tarafından Hücre Büyümesi ve Apoptozun Düzenlenmesi

IRF'lerin bir diğer kritik işlevi hücre büyümesinin, apoptozun ve onkogenezin düzenlenmesidir. IRF'lerin bu işlevlerinin bir özeti Tablo 2.3'te gösterilmiştir. Böylece, IRF'ler bağışıklık ve tümör baskılanmasını yöneten mekanizmaları birbirine bağlar.

Tablo 2.3. IRF transkripsiyon faktörü ailesi tarafından bağışıklık ve onkogenezin düzenlenmesi (101).

IRF	**Hücre büyümesi ve apoptozdaki roller**	**Hedef genler tarafından kodlanan proteinler**
IRF-1	Onkojen kaynaklı dönüşümü baskılar	lisil oksidaz
	DNA hasarına bağlı büyümenin durması için gerekli	p21
	DNA hasarı ve diğer uyaranlar tarafından indüklenen apoptoz için gereklidir	Kaspaz-1, Kaspaz-7, Kaspaz-8, GAAP-1 ve TRAIL
IRF-2	IRF-1'i veya kendi işlem aktivitesini antagonize ederek onkogenezi teşvik eder	Histon H4
	Eritroid hücrelerinin hayatta kalmasını destekler	BCL-XL
IRF-3	Bakteriyel enfeksiyon üzerine makrofajlarda apoptozu uyarır	TRAIL
	Virüs kaynaklı apoptozu teşvik eder	
	DNA hasarına bağlı apoptozu teşvik edebilir	
IRF-4	Multipl miyelomda onkogenezi teşvik eder	Myc
IRF-5	Onkojen kaynaklı dönüşümü baskılar	
	DNA hasarına bağlı apoptoz için gerekli	
	Hücre tipine özgü bir şekilde Fas kaynaklı apoptoz için gereklidir	
	Virüs kaynaklı apoptozu teşvik eder	

IRF-6	Keratinosit farklılaşması sırasında hücre döngüsünün durması için gereklidir	
IRF-8	Miyeloid hücre büyümesini inhibe eder	Blimp-1 ve p15
	Miyeloid hücrelerde çeşitli uyaran türleri tarafından indüklenen apoptozu ve bazı kanser hücrelerinde Fas kaynaklı apoptozu teşvik eder	NF1 ve PML; BCL-XL, BCL-2 ve Fap-1'i bastırır
	Yokluğu, kronik miyeloid lösemi benzeri bir hastalığa yol açar	
IRF-9	p53'ün tip I IFN indüksiyonuna aracılık eder	p53

GAAP-1: Golgi antiapoptotik protein-1, TRAIL: Tümör Nekroz Faktörü İlişkili Apoptozu İndükleyen Ligand, IRF: İnterferon regülatör faktör, BCL-XL: B hücre lenfoma-extra large, Blimp-1: B lenfosit kaynaklı olgunlaşma proteini-1, NF1: Nörofibromin 1, PML: Promiyelositik lösemi protein, BCL-2: B hücre lenfoma-2, Fap-1: Fibroblast aktivasyon protein-1, IFN: İnterferon

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür. Çalışmamız için Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 21.12.2020 tarih ve 2020-12/06 sayılı karar ile izin alınmıştır. Çalışma, Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi esaslarına uyularak yapılmıştır. Mali destek Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (CÜBAP) tarafından sağlanmıştır.

Çalışmaya, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda 1 Mart 2021 ile 31 Ekim 2021 tarihleri arasında KKKA hastalığı ön tanısı ile yatırılan ve sonrasında T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü'nde PCR yöntemiyle KKKA virüsü pozitif ve/veya ELISA yöntemiyle IgM pozitif saptanan hastalar dahil edilmiştir. Çalışmaya KKKA hastalığı tanısı alan, yatırılarak takip ve tedavisi yapılan 60 hasta alınmıştır. Ayrıca kontrol grubu olarak sağlıklı kadın ve erkeklerden oluşan, herhangi bir kronik hastalığı veya ilaç kullanımı olmayan toplam 30 kişi seçilerek serumları ayrılmıştır.

Hastaların demografik verileri, tanılı hastalıkları, kullanılan tedaviler ve nihai durumları (sağ kalım, mortalite) kaydedilmiştir. Hastaların yatışı sırasında çalışılmış olan; platelet (PLT), HB, lökosit, nötrofil (NEU), lenfosit (LYM), LDH, AST, ALT, kreatin kinaz (CK), kan üre azotu (BUN), kreatin, PT, aPTT, INR, fibrinojen, d-dimer, ferritin ve IL-6 düzeyleri analizlere dahil edilmiştir. Çalışmamızda Bakır ve arkadaşlarının önerdiği şiddet derecelendirme skoru (SGS) kullanılmıştır (148). Buna göre hastalar hafif, orta ve şiddetli klinik ciddiyet şeklinde 3 gruba ayrılmıştır.

3.1.Serum Örneklerinin Elde Edilmesi

Hasta grubunda yer alan KKKA hastalığı ön tanısı ile kliniğimize yatan hastaların sağ veya sol kolundan 4-5 mL venöz kan kuru tüplere alınmıştır. Alınan kanlar oda sıcaklığında 2 saat dinlendirildikten sonra santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Ayrılan serumlar eppendorf (EP) tüplerde – 40°C'de saklanmıştır. Hasta grubunda ön tanı aşamasında kan alınmasının sebebi, hastaya kliniğimizde yattıktan sonra yapılacak işlemlerin bu çalışma kapsamında bakılacak parametreleri etkileme ihtimalinin ortadan kaldırılmasıdır. Kesin tanı almayan hastaların kan örnekleri çalışmaya dahil edilmemiştir ve imha edilmiştir. Kontrol grubunda yer alan

bireylerden ise sabah aç karnına 4-5 mL venöz kan kuru tüplere alınmıştır. Bu kan örnekleri 1000 x g'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar daha sonra çalışılmak üzere EP tüplere ayrılarak tüm örnekler – 40^0C soğutucuda saklanmıştır.

3.2. ELİSA Yöntemiyle IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta Düzeylerinin Ölçülmesi

3.2.1.Kit Bileşenleri

Ölçümlerde Human IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta ELİSA Kit kullanılmıştır. Kit bileşenleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

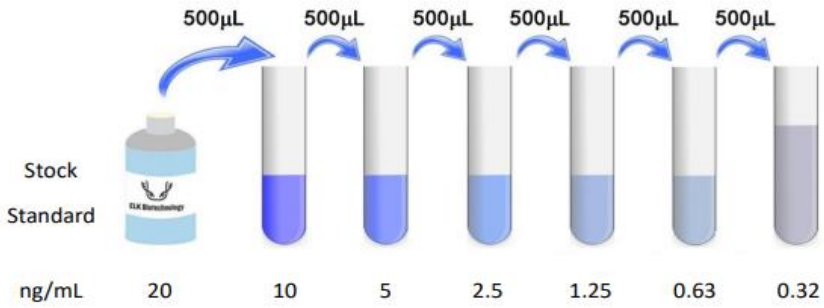
Tablo 3.1. Human IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta ELİSA Kit Bileşenleri.

Reaktifler	**Miktar**	**Saklama Koşulları**
Mikroplate	8 kuyucuk x 12 bant	4°C
Standart (Liyofilize)	2 şişe	4°C
Biyotinlenmiş Antikor (100x)	1şişe 120 µL	4°C
Streptavidin-HRP (100×)	1şişe 120 µL	4°C
Standart Seyreltici Tamponu	1şişe 20 mL	4°C
Biyotinlenmiş Antikor Seyreltici	1şişe 12 mL	4°C
HRP Seyreltici	1şişe 12 mL	4°C
Yıkama Tamponu (25x)	1şişe 20 mL	4°C
TMB Substrat Solüsyonu	1şişe 9 mL	4°C
Stop Solüsyonu	1şişe 6 mL	4°C
Plate Kapakları	2 parça	4°C

3.2.2.Reaktif Hazırlanması

1. Tüm kit bileşenleri ve numuneleri kullanılmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirilmiştir.
2. 25 × Yıkama Tamponu çift buharlı su ile 1 × Çalışma Konsantrasyonuna seyreltilmiştir.
3. IRF-1, IRF-2, IRF-3, IRF-4, IRF-7, IFN-alfa ve beta için Standart Çalışma Solüsyonları aşağıda anlatıldığı gibi hazırlanmıştır.

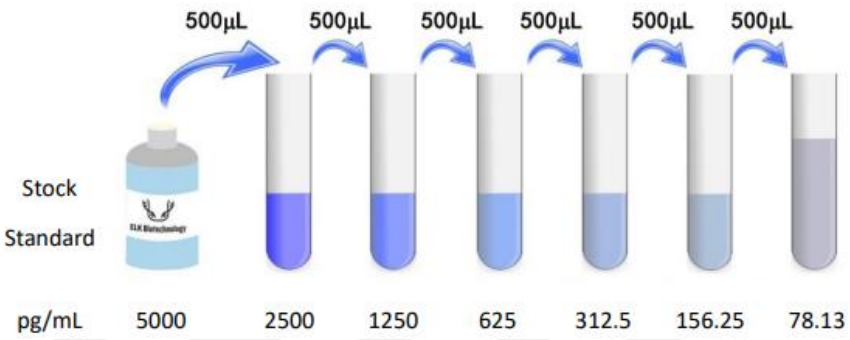
3.a. IRF-1 Standardı için Standart Çalışma Solüsyonu 1000 × g'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Standart 1.0 mL Standart Seyreltici Tamponu ile sulandırılmıştır, oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiş ve köpürmeyecek şekilde hafifçe sallanmıştır. Standardın stok solüsyondaki konsantrasyonu 20 ng/mL'dir. 0,5 mL Standart Seyreltici Tamponu içeren 7 tüp hazırlanmış ve Şekil 3.1'de gösterildiği gibi bir çift seyreltme serisi üretmek için Seyreltilmiş Standart kullanılmıştır. Bir sonraki transferden önce her tüpü iyice karıştırmak için solüsyon birkaç kez yukarı ve aşağı pipetlenmiştir. 20 ng/mL, 10 ng/mL, 5 ng/mL, 2,5 ng/mL, 1,25 ng/mL, 0,63 ng/mL, 0,32 ng/mL gibi 7 nokta Seyreltilmiş Standart ve son EP tüpleri ayarlanmıştır. Standart Seyreltici 0 ng/mL olarak boştur. Deneysel sonuçların geçerliliğini garanti etmek için her deney için yeni Standart Çözücü kullanılmıştır. Standardı yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona seyreltirken, her seyreltme için pipet ucu değiştirilmiştir.



Şekil 3.1. IRF-1 reaktifi hazırlanması.

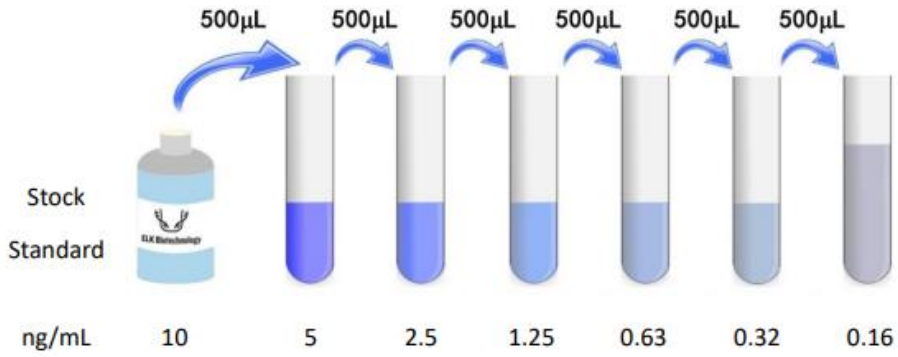
3.b. IRF-2 Standardı için Standart Çalışma Solüsyonu 1000 × g'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Standart 1.0 mL Standart Seyreltici Tamponu ile sulandırılmış, 10 dk oda sıcaklığında tutulmuş ve köpürmeyecek şekilde hafifçe sallanmıştır. Standardın stok solüsyondaki konsantrasyonu 5000 pg/mL'dir. 0,5 mL Standart

Seyreltici Tamponu içeren 7 tüp hazırlanmış ve Şekil 3.2'de gösterildiği gibi bir çift seyreltme serisi üretmek için Seyreltilmiş Standart kullanılmıştır. Bir sonraki transferden önce her tüpü iyice karıştırmak için solüsyon birkaç kez yukarı ve aşağı pipetlenmiştir. 5000 pg/mL, 2500 pg/mL, 1250 pg/mL, 625 pg/mL, 312.5 pg/mL, 156.25 pg/mL, 78.13 pg/mL gibi 7 nokta Seyreltilmiş Standart ve son EP tüpleri ayarlanmıştır.



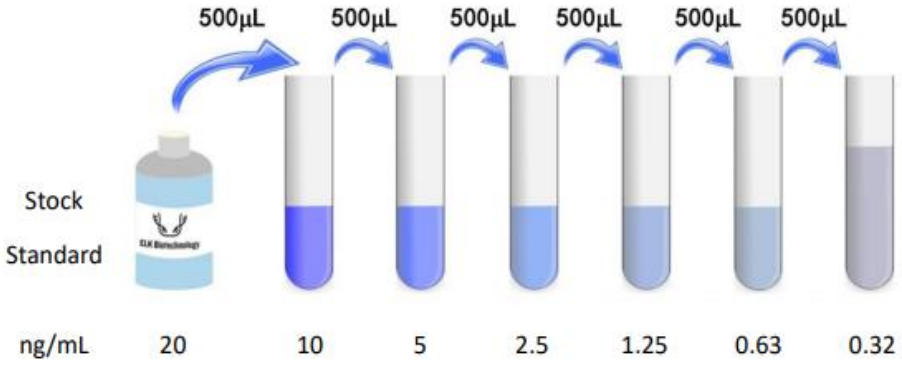
Şekil 3.2. IRF-2 reaktifi hazırlanması.

3.c. IRF-3 Standardı için Standart Çalışma Solüsyonu 1000 × g'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Standart 1.0 mL Standart Seyreltici Tamponu ile sulandırılmış, oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiş ve köpürmeyecek şekilde hafifçe sallanmıştır. Stok solüsyondaki Standardın konsantrasyonu 10 ng/mL'dir. 0,5 mL Standart Seyreltici Tamponu içeren 7 tüp hazırlanmış ve Şekil 3.3'te gösterildiği gibi bir çift seyreltme serisi üretmek için Seyreltilmiş Standart kullanılmıştır. Bir sonraki transferden önce her tüpü iyice karıştırmak için solüsyon birkaç kez yukarı ve aşağı pipetlenmiştir. 10 ng/mL, 5 ng/mL, 2,5 ng/mL, 1,25 ng/mL, 0,63 ng/mL, 0,32 ng/mL, 0,16 ng/mL gibi 7 nokta Seyreltilmiş Standart ve son EP tüpleri ayarlanmıştır.



Şekil 3.3. IRF-3 reaktifi hazırlanması.

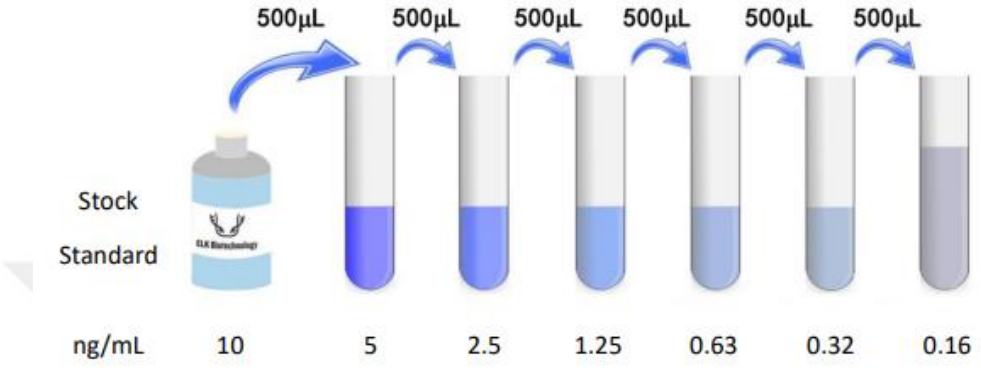
3.d. IRF-4 Standardı için Standart Çalışma Solüsyonu 1000 × g'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Standart 1.0 mL Standart Seyreltici Tamponu ile sulandırılmış, oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiş ve köpürmeyecek şekilde hafifçe sallanmıştır. Standardın stok solüsyondaki konsantrasyonu 20 ng/mL'dir. 0,5 mL Standart Seyreltici Tamponu içeren 7 tüp hazırlanmış ve Şekil 3.4'te gösterildiği gibi bir çift seyreltme serisi üretmek için Seyreltilmiş Standart kullanılmıştır. Bir sonraki transferden önce her tüpü iyice karıştırmak için solüsyon birkaç kez yukarı ve aşağı pipetlenmiştir. 20 ng/mL, 10 ng/mL, 5 ng/mL, 2,5 ng/mL, 1,25 ng/mL, 0,63 ng/mL, 0,32 ng/mL gibi 7 nokta Seyreltilmiş Standart ve son EP tüpleri ayarlanmıştır.



Şekil 3.4. IRF-4 reaktifi hazırlanması.

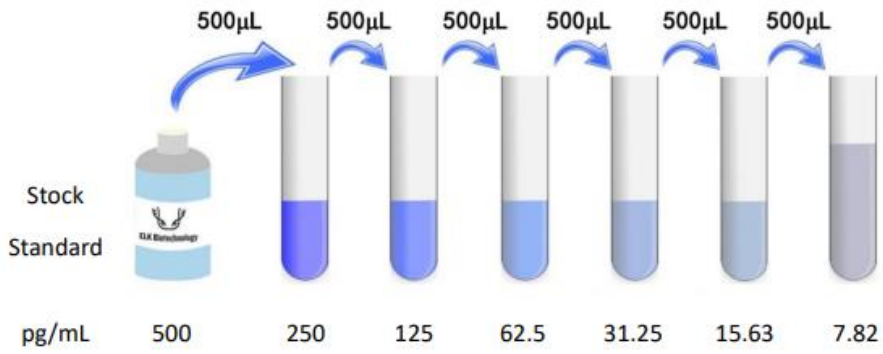
3.e. IRF-7 Standardı için Standart Çalışma Solüsyonu 1000 × g'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Standart 1.0 mL Standart Seyreltici Tamponu ile sulandırılmış, 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiş ve köpürmeyecek şekilde hafifçe sallanmıştır. Stok solüsyondaki Standardın konsantrasyonu 10 ng/mL'dir. 0,5 mL Standart Seyreltici

Tamponu içeren 7 tüp hazırlanmış ve Şekil 3.5'te gösterildiği gibi bir çift seyreltme serisi üretmek için Seyreltilmiş Standart kullanılmıştır. Bir sonraki transferden önce her tüpü iyice karıştırmak için solüsyon birkaç kez yukarı ve aşağı pipetlenmiştir. 10 ng/mL, 5 ng/mL, 2,5 ng/mL, 1,25 ng/mL, 0,63 ng/mL, 0,32 ng/mL, 0,16 ng/mL gibi 7 nokta Seyreltilmiş Standart ve son EP tüpleri ayarlanmıştır.



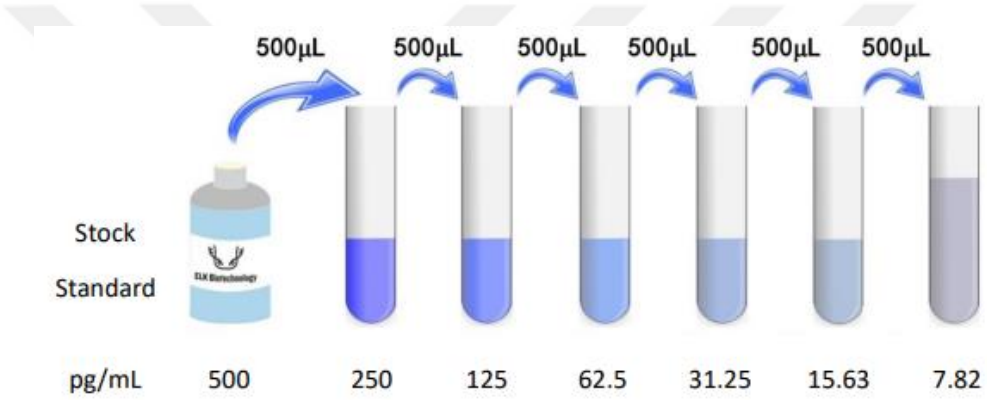
Şekil 3.5. IRF-7 reaktifi hazırlanması.

3.f. IFN- alfa Standardı için Standart Çalışma Solüsyonu 1000 × g'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Standart 1.0 mL Standart Seyreltici Tamponu ile sulandırılmış, 10 dk oda sıcaklığında tutulmuş ve köpürmeyecek şekilde hafifçe sallanmıştır. Standardın stok solüsyondaki konsantrasyonu 500 pg/mL'dir. 0,5 mL Standart Seyreltici Tamponu içeren 7 tüp hazırlanmış ve Şekil 3.6'da gösterildiği gibi bir çift seyreltme serisi üretmek için Seyreltilmiş Standart kullanılmıştır. Bir sonraki transferden önce her tüpü iyice karıştırmak için solüsyon birkaç kez yukarı ve aşağı pipetlenmiştir. 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62.5 pg/mL, 31.25 pg/mL, 15.63 pg/mL, 7.82 pg/mL gibi 7 nokta Seyreltilmiş Standart ve son EP tüpleri ayarlanmıştır.



Şekil 3.6. IFN-alfa reaktifi hazırlanması.

3.g. IFN-beta Standardı için Standart Çalışma Solüsyonu 1000 × g'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Standart 1.0 mL Standart Seyreltici Tamponu ile sulandırılmış, 10 dk oda sıcaklığında tutulmuş ve köpürmeyecek şekilde hafifçe sallanmıştır. Standardın stok solüsyondaki konsantrasyonu 500 pg/mL'dir. 0,5 mL Standart Seyreltici Tamponu içeren 7 tüp hazırlanmış ve Şekil 3.7'de gösterildiği gibi bir çift seyreltme serisi üretmek için Seyreltilmiş Standart kullanılmıştır. Bir sonraki transferden önce her tüpü iyice karıştırmak için solüsyon birkaç kez yukarı ve aşağı pipetlenmiştir. 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62.5 pg/mL, 31.25 pg/mL, 15.63 pg/mL, 7.82 pg/mL gibi 7 nokta Seyreltilmiş Standart ve son EP tüpleri ayarlanmıştır.



Şekil 3.7. IFN-beta reaktifi hazırlanması.

4. Biyotinlenmiş Antikor ve Streptavidin-HRP: Kullanılmadan önce stok Biyotinlenmiş Antikor ve Streptavidin-HRP solüsyonları santrifüjlenmiştir. Sırasıyla Biyotinlenmiş Antikor Seyreltici ve HRP Seyreltici ile çalışma konsantrasyonuna kadar 100 kat seyreltilmiştir.
5. TMB Substrat - Çözeltinin gerekli dozajı sterilize edilmiş uçlarla aspire edilmiş ve kalan çözelti tekrar flakona dökülmemiştir.

3.2.3.Test Protokolü

1. Seyreltilmiş Standart, boş ve numune için kuyular belirlenmiştir. Standart için 7 kuyu, boş için 1 kuyu hazırlanmıştır. Uygun kuyucuklara 100 µL Standart Çalışma Solüsyonu veya 100 µL numune eklenmiştir. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37°C'de 80 dk inkübe edilmiştir. Solüsyonlar mikro ELİSA plak kuyusunun dibine eklenmiş,

mümkün olduğunca iç duvara dokunmaktan ve köpürmeye neden olmaktan kaçınılmıştır.

2. Her kuyunun sıvısı çıkarılmıştır. Solüsyon aspire edilmiş ve her kuyu 200 µL Yıkama Solüsyonu ile bir kez yıkanmış ve 1-2 dk bekletilmiştir. Plaka emici kağıda yaslanarak tüm kuyucuklardan kalan sıvı tamamen çıkarılmıştır. 3 kez yıkama yapılmıştır. Son yıkamadan sonra kalan Yıkama Tamponu aspire edilerek veya boşaltılarak çıkarılmıştır. Plaka ters çevrilmiş ve emici kağıda bastırılmıştır.
3. Her kuyuya 100 µL Biyotinlenmiş Antikor Çalışma Solüsyonu eklenmiş, kuyular plaka kapatıcı ile kapatılmış ve 37°C'de 50 dk inkübe edilmiştir.
4. 2. adımda gerçekleştirildiği gibi aspirasyon ve yıkama işlemi toplam 3 kez tekrarlanmıştır.
5. Her kuyuya 100 µL Streptavidin-HRP Çalışma Solüsyonu eklenmiş, kuyular plaka kapatıcı ile kapatılmış ve 37°C'de 50 dk inkübe edilmiştir.
6. 2. adımda gerçekleştirildiği gibi aspirasyon ve yıkama işlemi toplam 5 kez tekrarlanmıştır.
7. Her kuyucuğa 90 µL TMB Substrat Solüsyon eklenmiştir. Yeni bir plaka kapatıcı ile örtülmüştür. 37°C'de 20 dk inkübe edilmiştir. Işıktan korunmuştur. TMB Substrat Solüsyon eklendiğinde sıvı maviye dönmüştür.
8. Her kuyucuğa 50 µL Reaktif Stop Solüsyonu eklenmiştir. Reaktif Stop Solüsyonu eklendiğinde sıvı sararmıştır. Plakanın kenarına vurularak sıvı karıştırılmıştır. Reaktif Stop Solüsyonu ekleme sırası, TMB Substrat Solüsyon ile aynıdır.
9. Plakanın altındaki herhangi bir su damlası, parmak izi çıkarılmış ve sıvının yüzeyinde kabarcık olmadığından emin olunmuştur. Ardından mikroplaka okuyucuyu çalıştırılmış ve hemen 450 nanometrede ölçüm yapılmıştır.

   IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeyleri "Human IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta Elisa Kitleri" (ELK Biotechnology CO., Ltd., Wuhan, Çin) yöntemiyle değerlendirilmiştir. Çalışılan parametrelerin reaktiflerinin hazırlanmasını şematize eden görseller http://www.elkbiotech.com/upload/file/ELISA/ELK2069-1.pdf sitesinden alınmıştır.

3.2.4.IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta ELİSA Kit Algılama Aralıkları

IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta ELİSA Kit algılama aralıkları Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta ELİSA Kit Algılama Aralıkları

Kit	Algılama Aralığı
IRF-1	0.32-20 ng/mL
IRF-2	78.13-5000 pg/mL
IRF-3	0.16-10 ng/mL
IRF-4	0.32-20 ng/mL
IRF-7	0.16-10 ng/mL
IFN-alfa	7.82-500 pg/mL
IFN-beta	7.82-500 pg/mL
ng: nanogram, pg: pikogram, mL: mililitre	

3.3. İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu histogram, q-q grafikleri ve Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Varyans homojenliği Levene testi ile test edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda nicel değişkenler için Mann-Whitney U testi ve bağımsız iki örneklem *t* testleri uygulanmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırmalarında Pearson χ^2 analizi ve Fisher kesin χ^2 testi kullanılmıştır. İkiden fazla gruplar arası karşılaştırmalarda nicel değişkenler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Kruskal-Wallis H testleri kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için Tukey, Tamhane ve Dunn-Bonferroni testleri kullanılmıştır. Nicel değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. IFN ve IRF düzeylerinin hastalık durumu ve mortalite durumu üzerindeki tanı performansının araştırılmasında ROC (Receiver Operating Characteristics) analizleri kullanılmıştır. Eğri altında kalan alan % 95 güven aralıkları ile verilmiştir. En uygun kesim değerlerinin belirlenmesinde Youden indeksi kullanılmıştır. Elde edilen kesim değerlerine ilişin duyarlılık, seçicilik, pozitif ve negatif kestirim değerleri % 95 güven aralığı ile verilmiştir. Verilerin analizi R 4.0.1 (www.r-project.org) ve easyROC yazılımlarında gerçekleştirilmiştir (149). Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamıza KKKA hastalığı tanısı konmuş 60 KKKA hastası ve 30 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Hasta grubu 40 (% 66.7) erkek, 20 (% 33.3) kadın bireyden oluşmakta olup, hastalardan 15'i hayatını kaybetmiştir. Kontrol grubu 21 (% 70) erkek, 9 (% 30) kadın bireyden oluşmaktadır. Çalışma grubuna ait demografik veriler Tablo 4.1'de sunulmuştur. Hasta grubu ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

Tablo 4.1. Yaş ve cinsiyet dağılımlarının gruplar arasında karşılaştırılması.

Değişken	**Gruplar**		***P***
	Kontrol (*n*=30)	Hasta (*n*=60)	
Yaş (Yıl)	54.57±9.10	55.05±18.17	>0.05
Cinsiyet(Kadın)	9(30)	20(33.3)	>0.05

Veriler *n*(%) ya da ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastalar şikayetlerinin ortalama 5±2 gününde hastaneye başvurmuşlardır. Hastaların 46'sında (% 76.7) kene teması öyküsü vardır. Hasta grubunun en sık bildirdiği kronik hastalık hipertansiyon olmuştur. Yalnızca bir hastanın malignite tanısı olup, diffüz büyük B hücreli lenfoma ile takiplidir. Hastaların 32'sinin (% 53.3) tedavisinde ribavirin, 25'inin (% 41.7) tedavisinde ise steroid kullanılmıştır. Ribavirin ve steroid tedavisinin birlikte kullanıldığı hasta sayısı ise 17 (% 28.3) dir. Hastaların tanımlayıcı özellikleri Tablo 4.2'de ifade edilmiştir.

Tablo 4.2. Hastaların tanımlayıcı özellikleri.

Değişken	**Tanımlayıcı istatistik**
Kene teması öyküsü (Var)	46(76.7)
Ribavirin tedavisi (Var)	32(53.3)
Steroid kullanımı (Var)	25(41.7)
Ribavirin ve steroid tedavisi (Var)	17(28.3)
Diabetes Mellitus (Var)	6(10.0)
Hipertansiyon (Var)	17(28.3)
Kronik böbrek hastalığı (Var)	4(6.7)
Nörolojik hastalık (Var)	5(8.3)
Koroner arter hastalığı (Var)	9(15.0)
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (Var)	3(5.0)
Malignite (Var)	1(1.7)
Şikayet günü	5±2(1-15)
Başvuru günü SGS	5±3(0-13)

Veriler *n*(%) ya da ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında serum IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilmiştir. Hasta grubunda kontrol grubuna göre IRF-1 hariç diğer tüm parametrelerin artmış düzeyleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Hasta ve sağlıklı kontroller arasında interferon düzeylerinin karşılaştırılması.

Değişken	**Gruplar**		**Toplam**	***p***
	Kontrol (*n*=30)	Hasta (*n*=60)		
IFN-BETA (pg/mL)	52.8(37.2-200.0)	231.0(121.9-470.7)	159.6(70.2-394.8)	**<0.001**
IFN-ALFA (pg/mL)	633.0(562.5-712.6)	741.4(660.4-926.5)	701.2(606.0-783.7)	**<0.001**
IRF-1 (ng/mL)	44.4(38.1-47.2)	38.2(34.6-45.6)	39.5(35.3-47.2)	**0.049**
IRF-2 (pg/mL)	17.0(2.4-284.4)	1241.8(94.4-2584.4)	676.0(18.0-1650.6)	**<0.001**
IRF-3 (ng/mL)	0.1(0.1-0.1)	0.9(0.1-3.4)	0.3(0.1-2.0)	**<0.001**
IRF-4 (ng/mL)	0.1(0.1-4.8)	2.0(0.1-12.6)	1.0(0.1-10.4)	**0.010**
IRF-7 (ng/mL)	1.1(0.2-2.9)	4.1(2.3-7.9)	3.4(1.3-6.5)	**<0.001**

Veriler ortalama ± standart sapma ya da ortanca(1.çeyrek-3.çeyrek) olarak ifade edilmiştir. Anlamlı sonuçlar kalın karakterler ile ifade edilmiştir.

Hastaların nonspesifik laboratuvar parametreleri, IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta çalışma kanları ile eş zamanlı alınan kanlardan çalışılmıştır. Laboratuvar parametreleri olarak beyaz kan hücresi (WBC), NEU, LYM, HB, PLT, ALT, AST, LDH, CPK, BUN, kreatin, PT, aPTT, INR, fibrinojen, d-dimer, IL-6, ferritin değerleri kullanılmıştır. Ayrıca hastaların hastaneye başvuru anındaki SGS'leri hesaplanmıştır. Tüm bu parametrelerin sonuçları ölen ve yaşayan hasta grupları arasında karşılaştırılmıştır. SGS, BUN, kreatin, AST, LDH, PT, aPTT, INR, fibrinojen, d-dimer, WBC, NEU (10^9/L), LYM (% ve 10^9/L), PLT, ferritin, IL-6 sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur. IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Hastalara ait bu parametrelerin sonuçları Tablo 4.4'te toplu olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Ölen ve yaşayan hastalar arasında klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması.

Değişken	**Hasta Grubu**		**Toplam**	***p***
	Ölen (*n*=15)	Yaşayan (*n*=45)		
SGS	8.73±3.53	4.18±2.89	5.0(2.0-8.0)	**<0.001**
FIBRINOJEN (mg/dL)	148.89±101.43	244.50±68.79	220.0(180.1-273.0)	**<0.001**
HB (g/dL)	12.76±2.30	13.91±1.96	13.9(12.2-15.1)	0.065
BUN (mg/dL)	41.2(24.6-53.3)	17.9(13.7-22.0)	20.2(14.4-32.3)	**<0.001**
KREATİN (mg/dL)	1.7(1.4-3.6)	0.9(0.8-1.2)	1.0(0.8-1.5)	**<0.001**
ALT (U/L)	138.0(60.0-320.0)	79.0(32.5-144.0)	91.5(37.8-188.0)	0.062
AST (U/L)	513.0(260.0-962.0)	203.0(59.5-300.0)	230.0(63.0-393.3)	**0.001**
LDH (U/L)	2091.0(1236.0-2856.0)	590.0(330.5-847.0)	716.5(350.8-1440.3)	**<0.001**
CK (U/L)	520.0(212.0-1532.0)	425.0(138.0-1233.5)	486.5(169.5-1255.8)	0.437
PT-SEC	16.5(14.0-23.0)	12.4(11.3-15.4)	13.2(11.5-16.2)	**<0.001**
INR	1.5(1.2-2.1)	1.1(1.0-1.4)	1.2(1.0-1.4)	**<0.001**
aPTT-SEC	60.3(44.1-71.3)	31.1(25.3-38.1)	33.4(26.0-49.0)	**<0.001**
D-DIMER (mg/L)	35.2(5.3-72.0)	2.2(1.1-32.4)	3.9(1.2-35.2)	**0.002**
WBC (10^9/L)	13.7(3.3-16.2)	2.6(1.8-3.6)	3.0(1.9-5.5)	**<0.001**
NEU (%)	78.5(65.0-87.6)	66.6(49.8-81.4)	70.7(51.1-83.5)	0.103
NEU (10^9/L)	9.0(2.5-11.9)	1.5(0.9-2.7)	2.0(1.1-4.7)	**<0.001**
LYM(%)	14.0(9.0-21.7)	24.1(13.3-40.0)	21.3(11.2-36.8)	**0.049**
LYM (10^9/L)	1.2(0.7-2.3)	0.5(0.4-0.9)	0.6(0.4-1.1)	**0.001**
PLT (10^9/L)	16.0(12.0-39.0)	56.0(28.5-117.5)	44.0(22.0-99.5)	**0.002**
FERRITIN (ug/L)	21168.0(10768.0-52188.0)	6196.0(986.0-21265.5)	10623.0(1187.8-27063.3)	**0.008**
IL-6 (ng/L)	102.0(47.9-156.0)	23.2(10.0-39.4)	30.1(16.2-72.6)	**<0.001**
IFN-BETA (pg/mL)	232.0(158.5-399.5)	206.5(113.4-510.4)	159.6(70.2-394.8)	0.427

IFN-ALFA (pg/mL)	761.9(730.3-1004.5)	687.9(605.5-921.8)	701.2(606.0-783.7)	0.069
IRF-1 (ng/mL)	34.5(16.7-45.7)	38.5(36.0-45.4)	39.5(35.3-47.2)	0.080
IRF-2 (pg/mL)	1336.9(1019.2-3690.2)	1229.0(41.0-2159.1)	676.0(18.0-1650.6)	0.222
IRF-3 (ng/mL)	1.6(0.5-3.4)	0.6(0.1-3.5)	0.3(0.1-2.0)	0.141
IRF-4 (ng/mL)	2.0(0.1-12.4)	2.1(0.1-13.6)	1.0(0.1-10.4)	0.798
IRF-7 (ng/mL)	5.6(3.8-7.9)	3.8(1.9-8.0)	3.4(1.3-6.5)	0.063
NEU/LYM (%)	5.5(2.3-8.9)	3.1(1.3-6.4)	3.4(1.4-6.8)	0.144
NEU/LYM (10^9/L)	5.6(2.3-9.6)	3.0(1.3-6.3)	3.3(1.4-7.2)	0.135

Veriler ortalama±standart sapma ve ortanca(1.çeyrek-3.çeyrek) olarak ifade edilmiştir. Anlamlı sonuçlar kalın karakterler ile ifade edilmiştir.

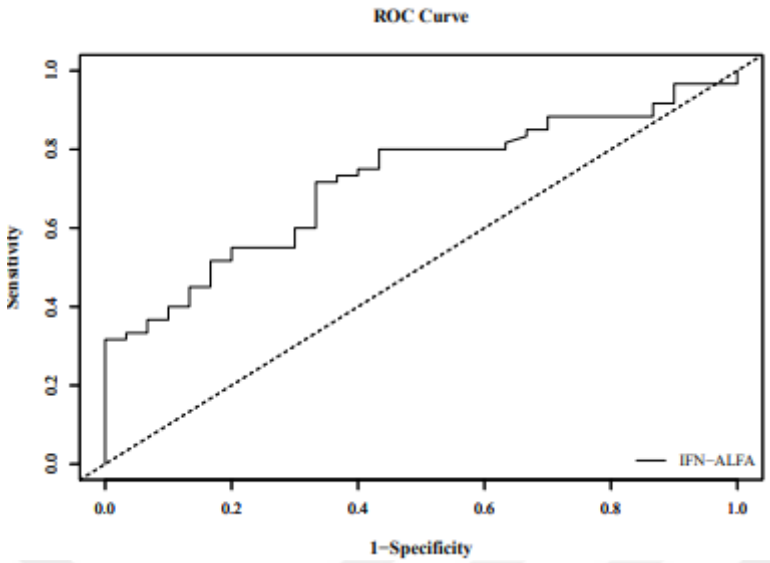
Hastalar SGS'ye göre hafif, orta ve şiddetli klinik düzey olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. SGS grupları arasında IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 4.5'te sunulmuştur. IRF-1 ile SGS arasında negatif yönde korelasyon bulunmuştur. Şiddetli klinik seyirli hastalarda IRF-7 düzeyi hem hafif hem de orta şiddette klinik gösteren gruba göre daha yüksektir. IRF-1 düzeyi şiddetli grupta hafif gruba göre daha düşük bulunmuştur. Diğer parametreler yönünden hafif, orta ve şiddetli grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Tablo 4.5. SGS grupları arasında interferon düzeylerinin karşılaştırılması.

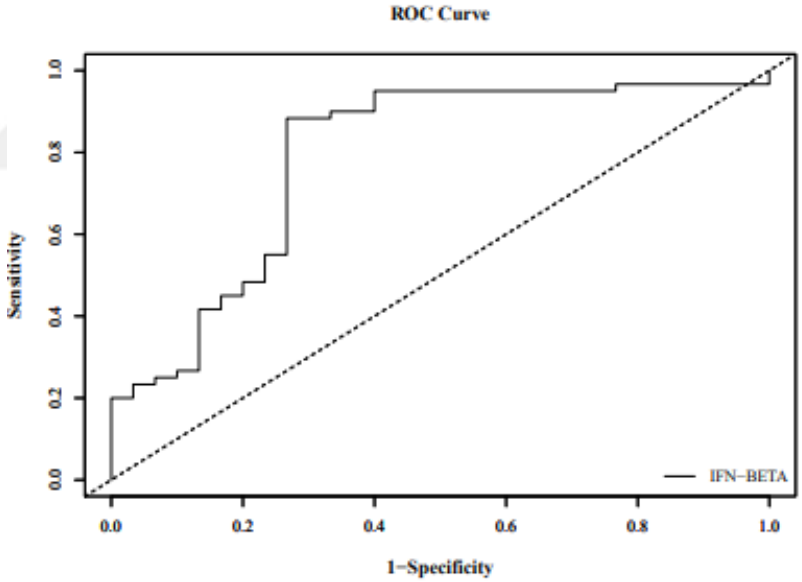
Değişken	**SGS**			**rho**	***p***
	Hafif (*n*=25)	Orta (*n*=22)	Şiddetli (*n*=13)		
IFN-BETA (pg/mL)	280.2(115.7-540.9)	155.1(113.6-417.7)	249.5(161.2-527.6)	0.023	0.313
IFN-ALFA (pg/mL)	687.9(601.0-1065.9)	720.7(649.9-1007.2)	783.4(738.5-848.3)	0.184	0.196
IRF-1 (ng/mL)	38.5(36.5-56.5)[a]	39.0(34.1-51.5)[ab]	35.0(16.7-39.0)[b]	-0.286[*]	**0.036**
IRF-2 (pg/mL)	1202.0(32.0-2011.5)	1037.9(76.8-1698.9)	2715.9(1188.6-5394.5)	0.189	0.059
IRF-3 (ng/mL)	1.0(0.1-4.1)	0.3(0.1-2.8)	1.6(0.7-3.6)	0.047	0.154
IRF-4 (ng/mL)	4.1(0.1-15.7)	1.6(0.1-3.7)	6.2(0.3-17.4)	0.064	0.382
IRF-7 (ng/mL)	3.9(2.3-5.7)[a]	3.2(1.7-7.0)[a]	7.4(4.7-11.7)[b]	0.184	**0.019**

*p<0.05. rho: Spearman korelasyon katsayısı. Veriler ortanca(1.çeyrek-3.çeyrek) olarak ifade edilmiştir. Anlamlı sonuçlar kalın karakterler ile ifade edilmiştir. Aynı satırda yer alan aynı harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir.

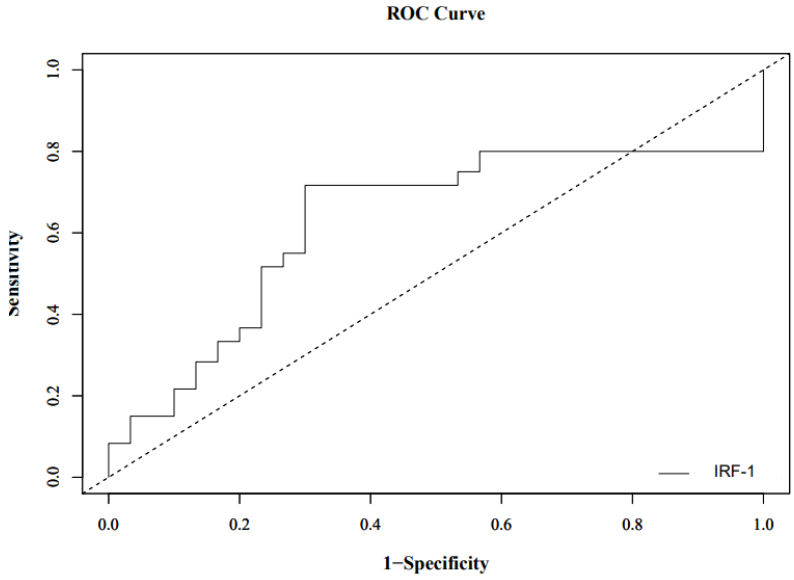
IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta değişkenlerinin hastalık durumunun belirlenmesinde tanı testi olarak kullanılıp kullanılamayacağını saptamak üzere ROC analizi yapılmıştır (Grafik 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7). Hastaların sağlıklı kontrollerden ayrılmasında en iyi belirteç IRF-2 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.6).



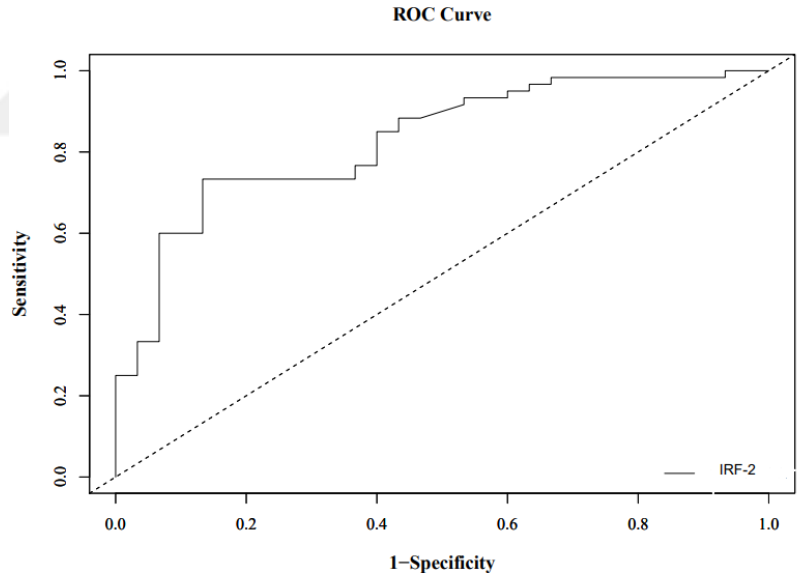
Grafik 4.1. KKKA hastalarında IFN-alfa değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi.



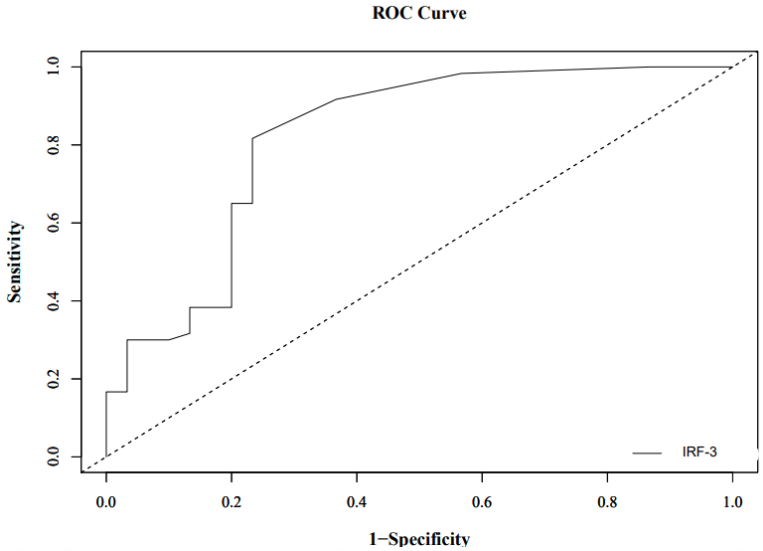
Grafik 4.2. KKKA hastalarında IFN-beta değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi.



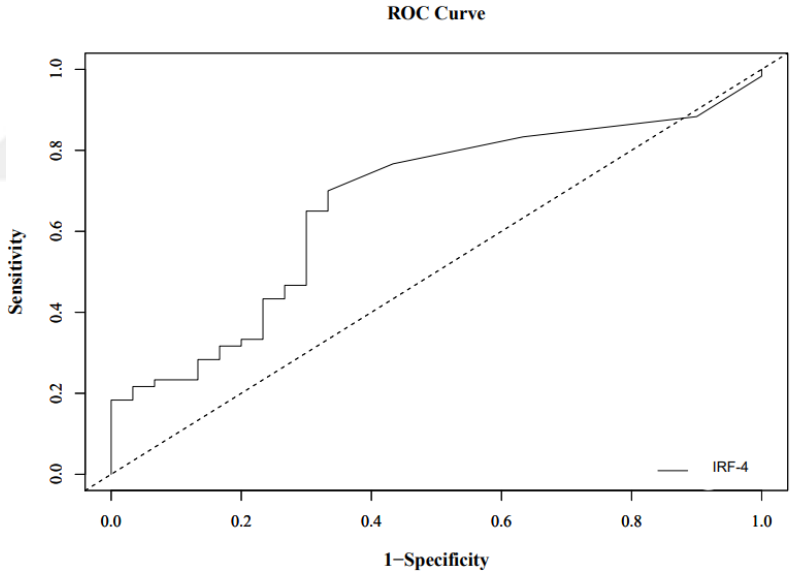
Grafik 4.3. KKKA hastalarında IRF-1 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi.



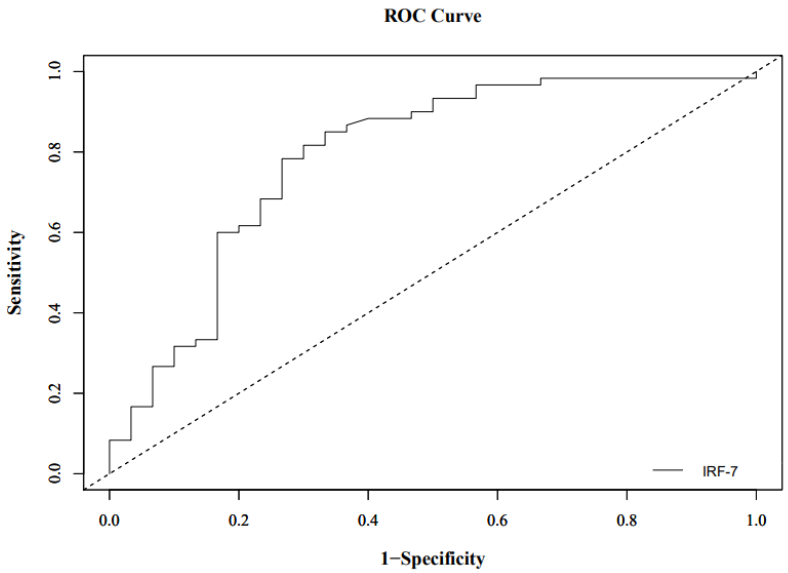
Grafik 4.4. KKKA hastalarında IRF-2 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi.



Grafik 4.5. KKKA hastalarında IRF-3 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi.



Grafik 4.6. KKKA hastalarında IRF-4 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analizi.



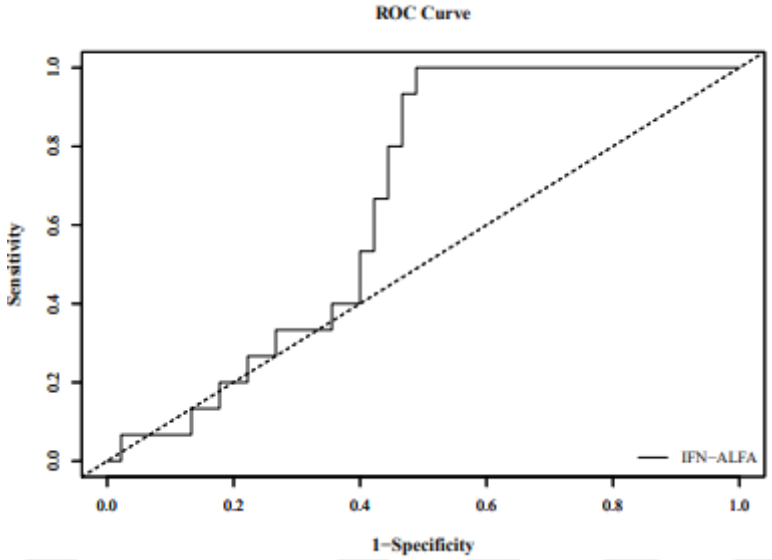
Grafik 4.7. KKKA hastalarında IRF-7 değişkeninin hastalık durumunu belirlemede ROC Curve analiz.

Tablo 4.6. Hastalık durumunun belirlenmesinde IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeylerinin tanı performanslarının araştırılması.

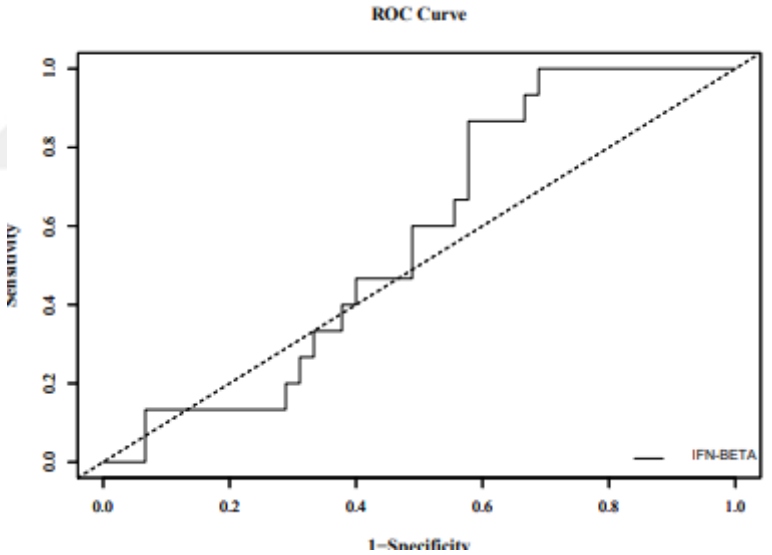
Belirteç	**ROC İstatistiği**		**Tanı istatistikleri**			
	EAA	*p*	DUY(%)	SEÇ(%)	PKD(%)	NKD(%)
IFN-BETA > 99.68	0.79(0.68-0.90)	**<0.001**	0.88(0.77-0.95)	0.73(0.54-0.88)	0.87(0.74-0.95)	0.76(0.59-0.89)
IFN-ALFA > 682.95	0.72(0.61-0.82)	**<0.001**	0.72(0.59-0.83)	0.67(0.47-0.83)	0.81(0.66-0.89)	0.54(0.40-0.74)
IRF-1 < 41.87	0.63(0.50-0.75)	**<0.001**	0.72(0.59-0.83)	0.70(0.51-0.85)	0.83(0.68-0.90)	0.55(0.41-0.75)
IRF-2 > 596.49	0.83(0.74-0.92)	**<0.001**	0.73(0.60-0.84)	0.87(0.69-0.96)	0.92(0.79-0.95)	0.62(0.47-0.87)
IRF-3 > 0.11	0.82(0.72-0.92)	**<0.001**	0.82(0.70-0.91)	0.77(0.58-0.90)	0.88(0.74-0.94)	0.68(0.52-0.85)
IRF-4 > 0.06	0.67(0.55-0.79)	**<0.001**	0.70(0.57-0.81)	0.67(0.47-0.83)	0.81(0.65-0.89)	0.53(0.39-0.73)
IRF-7 > 2.01	0.79(0.68-0.90)	**<0.001**	0.85(0.82-0.78)	0.67(0.70-0.73)	0.84(0.85-0.86)	0.69(0.63-0.70)

EAA: Eğri Altında Kalan Alan, DUY: Duyarlılık, SEÇ: Seçicilik, PKD: Pozitif kestirim değeri, NKD: Negatif kestirim değeri. Anlamlı sonuçlar kalın karakterler ile ifade edilmiştir.

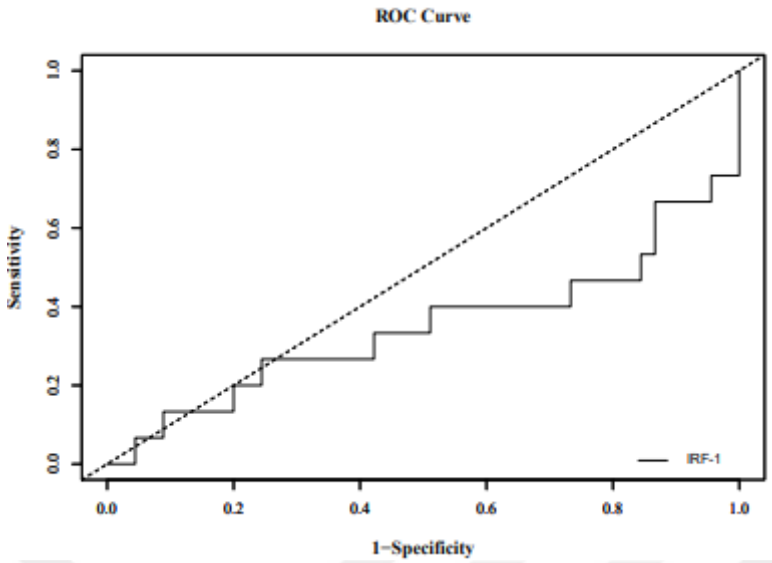
IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta değişkenlerinin hastalığın mortalitesini belirlemede tanı testi olarak kullanılıp kullanılamayacağını saptamak üzere ROC analizi yapılmıştır (Grafik 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14). Mortalitenin dışlanmasında IFN-alfa, IFN-beta ve IRF-7'nin en güçlü tanısal performansa sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.7).



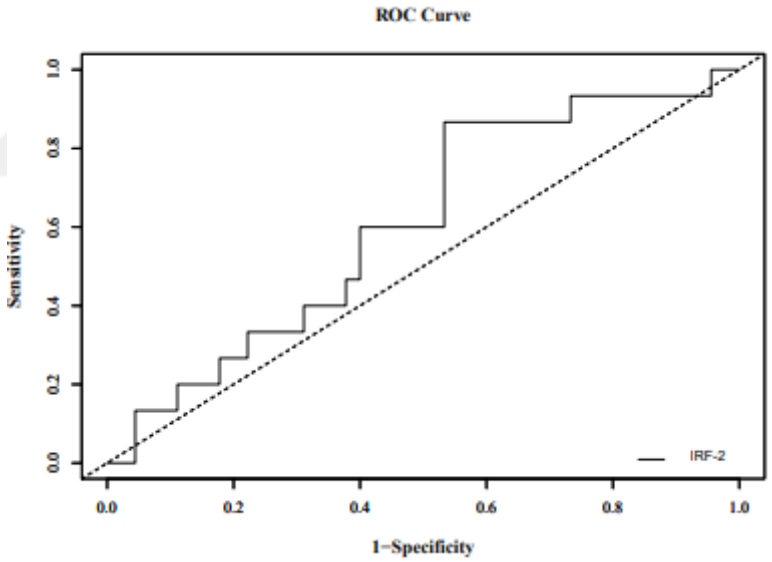
Grafik 4.8. KKKA hastalarında IFN-alfa değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz.



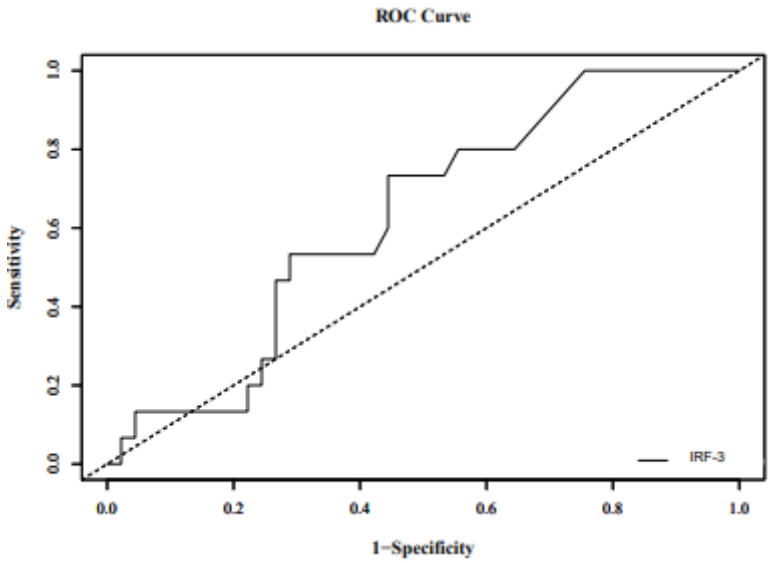
Grafik 4.9. KKKA hastalarında IFN-beta değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz.



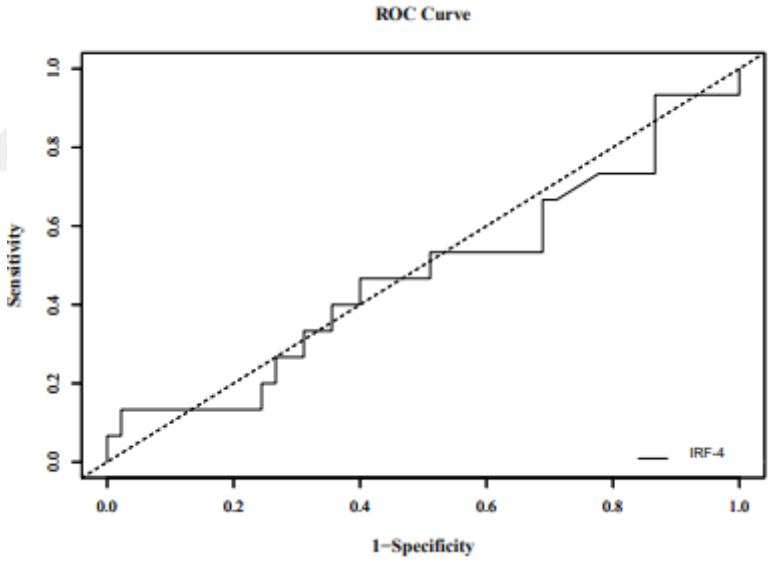
Grafik 4.10. KKKA hastalarında IRF-1 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz.



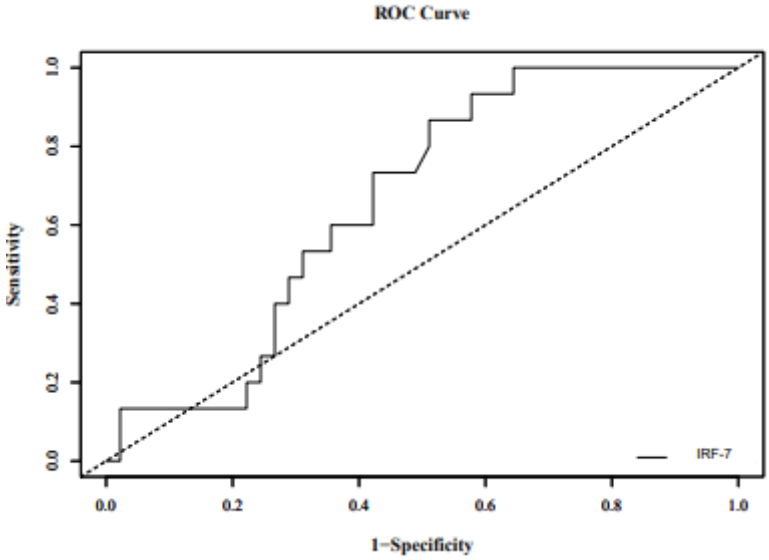
Grafik 4.11. KKKA hastalarında IRF-2 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz.



Grafik 4.12. KKKA hastalarında IRF-3 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz.



Grafik 4.13. KKKA hastalarında IRF-4 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz.



Grafik 4.14. KKKA hastalarında IRF-7 değişkeninin hastaların mortalite durumunu belirlemede ROC Curve analiz.

Tablo 4.7. Hastalarda mortalitenin belirlenmesinde IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeylerinin tanı performanslarının araştırılması.

Belirteç	**ROC İstatistiği**		**Tanı istatistikleri**			
	EAA	*P*	DUY(%)	SEÇ(%)	PKD(%)	NKD(%)
IFN-BETA > 119.03	0.57(0.42-0.72)	0.362	1.00(0.78-1.00)	0.31(0.18-0.47)	0.33(0.19-1.00)	1.00(0.77-1.00)
IFN-ALFA > 695.91	0.66(0.52-0.79)	**0.023**	1.00(0.78-1.00)	0.51(0.36-0.66)	0.41(0.27-1.00)	1.00(0.85-1.00)
IRF-1 < 34.51	0.65(0.46-0.84)	0.120	0.53(0.27-0.79)	0.84(0.71-0.94)	0.53(0.34-0.79)	0.84(0.63-0.94)
IRF-2 > 827.32	0.61(0.45-0.77)	0.195	0.87(0.60-0.98)	0.47(0.32-0.62)	0.35(0.22-0.83)	0.91(0.70-0.95)
IRF-3 > 0.79	0.63(0.48-0.78)	0.095	0.73(0.45-0.92)	0.56(0.40-0.70)	0.36(0.23-0.70)	0.86(0.65-0.92)
IRF-4 > 0.043	0.52(0.34-0.70)	0.810	0.47(0.21-0.73)	0.69(0.53-0.82)	0.33(0.21-0.61)	0.80(0.55-0.89)
IRF-7 > 3.15	0.66(0.52-0.80)	**0.023**	1.00(0.87-1.00)	0.36(0.42-0.49)	0.34(0.35-0.36)	1.00(0.95-0.92)

EAA: Eğri Altında Kalan Alan, DUY: Duyarlılık, SEÇ: Seçicilik, PKD: Pozitif kestirim değeri, NKD: Negatif kestirim değeri. Anlamlı sonuçlar kalın karakterler ile ifade edilmiştir.

Yapılan korelasyon analizinde hastalarda IFN-alfa ile lenfosit sayısı (p<0.05, r=0.257) arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. IRF-1 ile platelet (p<0.01, r=0.338) ve fibrinojen (p<0.05, r=0.274) arasında pozitif korelasyon, BUN (p<0.05, r= -0.272), ALT (p<0.05, r= -0.317) AST (p<0.01, r= -0.365), LDH (p<0.05, r= -0.325), CK (p<0.01, r= -0.449), aPTT (p<0.05, r= -0.310) ve ferritin (p<0.05, r= -0.262) arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır. IRF-2 ile aPTT (p<0.05, r=0.281) arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. IRF-3 ile lenfosit sayısı (p<0.05, r=0.296) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta değişkenleri ile laboratuvar

parametreleri arasındaki ilişkinin Spearman korelasyon analizi ile araştırılması Tablo 4.8'de toplu olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.8. IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta değişkenleri ile laboratuvar parametreleri arasındaki ilişkinin Spearman korelasyon analizi ile araştırılması.

Değişken	**IFN-ALFA**	**IFN-BETA**	**IRF-1**	**IRF-2**	**IRF-3**	**IRF-4**	**IRF-7**
BUN	-0.007	0.130	-0.272*	0.047	0.117	0.073	0.099
CREATIN	0.106	0.038	-0.197	0.073	0.033	0.020	0.119
ALT	0.020	0.008	-0.317*	0.082	0.074	0.061	0.062
AST	0.101	0.046	-0.365**	0.157	0.099	0.093	0.138
LDH	0.104	0.047	-0.325*	0.173	0.154	0.100	0.197
CK	-0.083	-0.108	-0.449**	0.018	0.066	0.020	-0.040
PT-SEC	0.116	0.015	-0.166	0.204	-0.057	-0.110	0.105
INR	0.119	0.016	-0.204	0.179	-0.043	-0.108	0.113
aPTT-SEC	0.042	0.043	-0.310*	0.281*	0.061	-0.059	0.114
FIBRINOJEN	-0.079	-0.031	0.274*	-0.198	-0.086	-0.047	-0.164
D-DIMER	0.190	0.190	-0.099	0.226	0.057	0.158	0.201
WBC	0.191	-0.094	-0.208	0.143	0.090	-0.040	0.131
NEU(%)	-0.022	-0.122	-0.045	0.225	-0.136	-0.137	-0.025
NEU	0.122	-0.106	-0.228	0.212	0-0.001	-0.084	0.095
LYM(%)	0.002	0.108	0.058	-0.219	0.133	0.150	0.026
LYM	0.257*	0.057	-0.233	0.015	0.296*	0.222	0.190
HB	-0.128	-0.133	-0.055	-0.103	-0.146	-0.081	-0.202
PLT	-0.117	0.004	0.338**	-0.139	-0.139	-0.068	-0.130
FERRITIN	-0.041	-0.082	-0.262*	0.100	-0.068	0.006	-0.008

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

5. TARTIŞMA

KKKA hastalığı ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmasına rağmen hastalığın patogenezi hala tam olarak aydınlatılamamıştır. KKKA hastalığında, diğer viral kanamalı ateş hastalıklarında olduğu gibi immün sistem hastalığın kontrol altına alınmasında oldukça önemlidir. Ağır hastalarda ise bozulmuş immün yanıt söz konusudur. Bu durum kontrolsüz viremiye yol açarak olguların mortal seyretmesine neden olmaktadır (150).

Viral hemorajik ateşler sırasında, inflamatuar süreçler immün yanıtın anahtar unsurlarıdır ve proinflamatuar sitokinlerin, özellikle IL-1, IL-6 ve TNF-α, salınımının hastalık seyri ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (38,39).

KKKA enfeksiyonu sırasında gözlenen sitopenide hemofagositozun rol oynayabileceği düşünülmektedir. KKKA enfeksiyonunda sürekli olarak değişen derecelerde sitopeni bulunur. İnterferon-γ, TNF-α, IL-1 veya IL-6 gibi yüksek düzeyde Th1 sitokinleri tarafından uyarılan monositlerin aşırı aktivasyonu, hemofagositik lenfohistiyositozun olası immünopatolojik mekanizması olarak değerlendirilmektedir (37).

KKKA'da temel hedef endotel hücreleridir. İmmünohistokimyasal çalışmalarda KKKA olgularında endotel hücrelerinde virüs gösterilmiştir. Endotel hücrelerinde, virüs ve virüs ile ilişkili tübüloretiküler cisimcikler belirlenebilmektedir. Bu durum kapiller damarlarda fonksiyon bozukluklarına yol açmaktadır. Bunun da hastalık esnasındaki klinik ve patolojik değişikliklere sebep olduğu düşünülmektedir (38).

Laboratuvar bulguları olarak lökopeni, nötropeni, trombositopeni olguların tamamına yakın bir bölümünde görülür, ciddi hastalarda kanamalardan sonra eritrosit sayısı ve HB düşer. Serum transaminaz değerleri (ALT, AST, GGT), CK ve LDH değerleri artmıştır. Total protein ve albumin değerleri azalabilir. Kanama zamanı, PT, aPTT uzamıştır, fibrin yıkım ürünleri artar, fibrinojen azalır (45).

ELISA, KKKA'da antikor tespiti için en yaygın kullanılan tekniktir. KKKAV'nin tespiti için önerilen moleküler tanı testi, RT-PCR'dır (52–54).

KKKA hastalığında FDA onaylı bir aşı veya spesifik antiviral yoktur; bu nedenle tedavinin temelini destek tedavisi oluşturmaktadır (5,57). Tedavi seçeneklerinin sınırlı olduğu KKKA vakalarında mortalite % 5-30 arasında seyretmektedir (151).

Tip I, tip II ve tip III olmak üzere 3 tip IFN vardır. Tüm IFN sınıflarına ait IFN'ler viral enfeksiyonla mücadelede çok önemlidir. İnsanlarda, IFN-I; IFN-α alt tiplerini, IFN-β, IFN-ε, IFN-κ ve IFN-ω'yi içerir. İmmünolojik açıdan bakıldığında, IFN-α ve IFN-β ilgilenilen başlıca IFN-I alt tipleridir. Her ikisi de viral enfeksiyona yanıt olarak vücudun hemen hemen her hücresi tarafından üretilir ve önemli antiviral özellikleri paylaşır (83,84).

IRF transkripsiyon faktörleri ailesi, IFN yanıtlarının altında yatan gen ekspresyonunun düzenlenmesine katılımı ile bilinir. Memelilerde dokuz IRF proteini vardır: IRF-1, IRF-2, IRF-3, IRF-4 / PIP / LSIRF / ICSAT, IRF-5, IRF-6, IRF-7, IRF-8 / ICSBP ve IRF-9 / ISGF3γ (93). Ek olarak, IRF-10 kuşlarda ve teleost balıklarında bulunur, ancak insanlar ve farelerde yoktur (94).

Bağışıklık sisteminin gelişimini düzenleyen IRF'ler, doğuştan gelen ve uyarlanabilir bağışıklığın kurulmasını ve yürütülmesini şekillendirir. IRF'ler ayrıca birçok hücre tipinin büyümesini ve farklılaşmasını düzenler, böylece lösemi ve diğer kanserlerde de rol oynar (7).

KKKA hastalarında, serum IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeylerinin patogenezde rol alan önemli parametreler olabileceği düşüncesi ile başlattığımız çalışmamıza; 60 KKKA hastası ve kontrol grubu olarak 30 sağlıklı gönüllü birey dahil edilmiştir.

Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında serum IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilmiştir. Hasta grubunda kontrol grubuna göre IRF-1 hariç diğer tüm parametrelerin artmış düzeyleri tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Genomik ve transkripsiyonel PAMP'ler, germline kodlu anti-viral PRR'lerin aktivasyonunu tetikler. Çok çeşitli transmembran ve sitozolik PRR'ler, bu viral PAMP'ler için hücre içi ortamı sürekli olarak araştırır ve antiviral gen ekspresyonunun aktivasyonunu sağlayan yolları aktive eder. NFκB ve IRF aile transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, yayılmayı etkili bir şekilde kısıtlamak ve klirense yol açan adaptif yanıtları tetiklemek için gereken pro-inflamatuar ve tip-I IFN gen ekspresyonunu yönlendirmede merkezi öneme sahiptir (152).

Farklı virüslerin IRF transkripsiyon faktör ailesi üyelerini stimülasyonu birçok çalışmada gösterilmiştir. Dai ve arkadaşları, hem lipopolisakkarit hem de *Herpes simpleks virüs*'ün insan pDC'lerinde IRF-7 ekspresyonunu stimüle ettiğini ve IRF-7'nin bu gelişiminin NF-kappa B aktivasyonuna bağlı olduğunu göstermişlerdir (153).

Wu ve arkadaşları, BCi-NS1.1 insan hava yolu bazal hücre hattında ve A549 insan alveoler epitel hücre hattında *İnfluenza A virüsü* ile RIG-I ve IFN indüksiyon mekanizmalarını araştırmıştır. BCi-NS1.1 hücre hattında, RIG-I ve IRF-7'nin bazal ekspresyon seviyelerinin çok düşük olduğunu bulmuşlardır. *İnfluenza A virüsü* enfeksiyonunun, BCi-NS1.1 ve A549 hücre hattında RIG-I ve IRF-7'yi indüklediğini göstermişlerdir (154).

Bizim çalışmamızda da yukarıda açıklanan süreç ve çalışmalarla benzer şekilde; virüsle karşılaşmış olan hasta grubunda IRF-1 hariç diğer tüm parametrelerin artmış düzeyinin saptandığı değerlendirilmiştir.

Basler ve arkadaşları, *Ebola virüsü* VP35 proteininin, virüs kaynaklı IRF-3 fosforilasyonunu, ardından IRF-3 dimerizasyonunu ve nükleer translokasyonu bloke ettiğini bildirmişlerdir (155). *Ebola virüsü* örneğinde görüldüğü gibi bazı virüsler virülans faktörleri aracılığıyla IRF stimülasyonunun baskılanmasına neden olabilmektedir. Bizim çalışmamızda bu durumun IRF-1 stimülasyonu için gerçekleşmiş olabileceğini düşünmekteyiz. Bunun doğrulanması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Hasta grubunda kontrol grubuna göre IRF-1'in azalmış düzeyi tespit edilmiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.049), (Tablo 4.3). Literatürde bazı virüslerin bağışıklık tepkilerinden kaçmak için IRF-1 ekspresyonunu baskıladığını gösteren çalışmalar mevcuttur.

Ciccaglione ve arkadaşları, HCV yapısal çekirdek proteinlerinin IRF-1 ekspresyonu üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Tüm HCV replikonunu eksprese eden hücrelerde IRF-1 ekspresyonunun önemli ölçüde inhibe edildiğini bulmuşlardır. IRF-1 sentezinin baskılanmasına esas olarak yapısal çekirdek proteinin aracılık ettiğini ve bunun transkripsiyonel düzeyde gerçekleştiğini bildirmişlerdir (156).

HIV-1 transaktivatör protein (Tat), promotör aktivasyonu düzenleme kabiliyetine ek olarak, konakçı proteinlerin aktiviteleriyle etkileşime girme ve modüle etme kapasitesi sayesinde, konakçı anti-HIV yanıtını doğrudan ve dolaylı olarak modüle ederek patogenezin ve hastalık ilerlemesinin belirleyicisi olarak işlev görür. Tat'ın, IRF-1'in proteazom aracılı bozulmasını hızlandırmak için hücresel HDM2 (human double minute 2 proteini) ubikitin ligazı kullandığı ve bunun da HIV-1 enfeksiyonu sırasında IRF-1 transkripsiyonel aktivitesinin baskılanmasına neden olduğu bildirilmiştir. Böylece HIV-1 konakçı bağışıklık tepkilerinden kaçmıştır (157).

Rotavirüs NSP1 proteinleri, bağırsak epitelindeki bazal antiviral bağışıklık ve tip III IFN indüksiyonundan kaçınmak için önemli olan IRF-1 inhibitörleri olarak gösterilmişlerdir (158).

İnsan T hücreli lösemi virüsü tip-1 (HTLV-1), uzun bir latent enfeksiyon döneminden sonra taşıyıcıların % 2.5'inde yetişkin T hücreli lösemiye neden olmaktadır. HTLV-1 bZIP faktörü (HBZ) tüm yetişkin T hücreli lösemi hücrelerinde yapısal olarak eksprese edilmektedir. Bu durum, HBZ'nin lösemi patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Mukai ve Ohshima, HBZ'nin N-terminali ile IRF-1'in etkileşime girdiğine dair kanıtlar sunmuşlardır. HBZ, proteazom bağımlı bir yol aracılığıyla hem IRF-1 DNA bağlanma aktivitesini hem de stabilitesini azaltmıştır. Bu sonuçlar, HBZ'nin IRF-1 fonksiyonu üzerinde HTLV-1 ile ilişkili patogeneze katkıda bulunabilecek baskılayıcı etkiye sahip olduğunu göstermiştir (159).

HCV, HIV-1, *Rotavirüs*, HTLV-1 gibi virüslerin IRF-1 ekspresyonunu çeşitli mekanizmalarla baskılamasına yönelik literatürden kanıtlar yukarıda sunulmuştur; fakat bildiğimiz kadarıyla KKKAV ile IRF-1 arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışma yoktur; ancak bu durumun açıklığa kavuşturulması patogenezin aydınlatılması bakımından oldukça önemlidir.

Hastalar SGS'ye göre hafif, orta ve şiddetli klinik seyir olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. SGS hastalığa özgül olup mortaliteyi öngörmede oldukça başarılı bir skorlama sistemi olması nedeniyle tercih edilmiştir (160). IRF-1 ile SGS arasında negatif yönde korelasyon bulunmuştur (p<0.05, r= -0.286), (Tablo 4.5). IRF-1 düzeyi şiddetli grupta hafif gruba göre daha düşük bulunmuştur (p=0.036), (Tablo 4.5). Biz bu sonucumuzla bahsedilen virüslerde görüldüğü gibi KKKAV'nin de bağışıklık yanıtından kaçmak için IRF-1 ekspresyonunu baskılayabileceğini düşünmekteyiz.

IRF-7, viral enfeksiyonlara karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkisinde kilit bir rol almaktadır. IRF-7'nin yapısal ekspresyonu periferik kan lenfositleri ve DC'lerle sınırlıdır, çoğu hücre tipinde ekspresyonu tip I IFN ile indüklenebilir. IRF-7, enfekte olmamış hücrelerin sitoplazmasında tutulur ve viral enfeksiyon ile birlikte, dsRNA veya TLR sinyallemesini takiben, TBK ve IKK-i kinazlar tarafından fosforile hale gelir. Fosforile IRF-7, tip I IFN genlerini ve ISG'leri aktive edebildiği çekirdeğe göç eder. Yapısal olarak aktif bir IRF-7 formunun aşırı ekspresyonu, adaptif bağışıklıkta kilit rol oynayan iki protein olan IRF-1 ve düşük moleküler kütleli polipeptit-2'nin (LMP-2) promotorunun transkripsiyonel aktivitesini bağlar ve pozitif olarak düzenler. IRF-7'nin LMP-2 stimülasyonunda yeni tanımlanmış rolü, IRF-7'ye doğuştan gelen ve adaptif bağışıklığı köprüleyen transkripsiyonel bir düzenleyici rolü vermektedir (161).

Daffis ve arkadaşları, IRF-7 (-/-) farelerde IFN indüksiyonunu ve virüs kontrolünü değerlendirmişlerdir. Konjenik vahşi tip farelerle karşılaştırıldığında, IRF-7 (-/-) farelerde *Batı Nil virüs'*ü enfeksiyonundan sonra daha fazla ölüm görüldüğünü göstermişlerdir. Hem periferik hem de merkezi sinir sistemi dokularında erken ve yüksek *Batı Nil virüs'*ü yükleri görüldüğünü bildirmişlerdir. Bir korelasyon olarak, IRF-7 eksikliği, farelerde sistemik tip I IFN yanıtını baskılamıştır. Bununla tutarlı olarak, IFN-alfa gen ekspresyonu ve protein üretimi azalmıştır. IRF-7 (-/-) primer makrofajlarda, fibroblastlarda, DC'lerde ve kortikal nöronlarda viral titreler artmıştır.

Veriler, *Batı Nil virüs'*üne karşı erken koruyucu IFN-alfa yanıtının IRF-7'ye bağımlı transkripsiyonel sinyal yoluyla gerçekleştiğini göstermektedir (162).

Bizim çalışmamızda da, virüslere karşı bağışıklık yanıtında oldukça önemli rollere sahip olan IRF-7'nin hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre artmış düzeyi saptanmıştır (p<0.001), (Tablo 4.3). Ayrıca IRF-7 düzeyi hasta grupları arasında karşılaştırıldığında ise şiddetli hasta grubunda hafif ve orta şiddette hasta gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksek düzeyi tespit edilmiştir (p=0.019), (Tablo 4.5). KKKA hastalığında viral yük ile hastalık şiddeti arasındaki ilişki incelenmiş ve daha yüksek viral yüklerin daha şiddetli hastalık tablosuna yol açtığı ifade edilmiştir (36). Rollenhagen ve arkadaşları IRF-7 aracılı antiviral yanıtların arttırılmasının HIV-1 replikasyonunu sınırlandırdığını göstermişlerdir (163). Çalışmamızda da bu sebeplerle, şiddetli hasta grubunda daha yüksek IRF-7 düzeyi tespit edilmesinin artmış viral yük ile ilişkili olması muhtemeldir. Fakat çalışmamızda bu durumu doğrulayacak viral yük tespiti yapılmamıştır.

IRF-2, tip I IFN sinyallemede rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. IRF-2 eksikliğinin çeşitli immün disfonksiyonlara yol açtığı bildirilmiştir. IRF-2'nin B hücrelerinin, IFNAR'a bağımlı bir şekilde proliferasyonu ve Blimp-1'in stimülasyonu yoluyla antikor üretimini düzenlediği ortaya konulmuştur. Ayrıca DC'ler, NK hücreleri ve bazofiller de dahil olmak üzere çok çeşitli bağışıklık hücrelerinin işlevini ve gelişimini etkilemektedir (164,165). Tüm bunlara rağmen, antiviral etkileri yeterince incelenmemiş olan IRF-2, çalışmamızda hastaların sağlıklı kontrollerden ayrılmasında en iyi belirteç olarak tespit edilmiştir. Hastalık durumunun belirlenmesinde, IRF-2 için pozitif kestirim değeri % 92, negatif kestirim değeri % 62, duyarlılık % 73 ve seçicilik % 87 (% 95 güven aralığı, EAA 0.83) olarak saptanmıştır (Tablo 4.6).

Çalışmamızda hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmışken, yaşayan ve ölen hasta grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4.4).

Ölen hasta grubu şikayetlerinin ortalama 5±3 gününde, yaşayan hasta grubu ise 5±2 gününde hastaneye başvurmuşlardır. IRF-3, viral enfeksiyon sırasında IFN'lerin indüklenmesinde anahtar rol oynayan önemli bir hücresel transkripsiyon faktörüdür.

Birçok virüs, enfeksiyon sırasında çok erken (3-10 saat) IRF-3'ü indükler. Bu durumun bildirildiği virüsler; *Sitomegalovirüs*, *Herpes simpleks virüs 1*, *Vaccinia virüs* ve *Veziküler stomatit virüs'*tür (166–169).

Andersson ve arkadaşları, HuH-7, Vero ve A549 hücreleri kullanarak yaptıkları çalışmada KKKAV'nin muhtemelen IRF-3'ün aktivasyon yoluna müdahale ederek, IFN yanıtını geciktirdiğini bildirmişlerdir. Fakat bu nispeten gecikmeye rağmen bile enfekte hücrelerin enfeksiyondan 48 saat sonra IFN salgıladığı gösterilmiştir (170).

Araştırmalarda da bildirildiği gibi viral enfeksiyona yanıtta önemli rol oynayan IRF transkripsiyon faktörleri, enfeksiyon sırasında çok erken saatlerde indüklenmektedirler. Çalışmamızda ise hem yaşayan hem de ölen hasta grubunun ortalama hastaneye başvuru zamanları, araştırmalarda bildirilen sürelerle karşılaştırıldığında oldukça geçtir. Bu nedenle viral enfeksiyona erken yanıtta rol alan bu moleküllerin geç dönem düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanamadığı düşünülmüştür. Bu hipotezin doğrulanması için kurgulanmış ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KKKAV, IFN'ye duyarlı bir virüstür. Tip I IFN'ler, viral enfeksiyonlarda doğuştan gelen bağışıklık sisteminin önemli sitokinleridir. Adaptif immün mekanizmalar gelişmeden önce viral replikasyonu sınırlamak için tip I IFN'lerin erken üretimi gereklidir. IFN alfa ve beta tip I IFN'ler, IFNAR olarak adlandırılan heterodimerik bir transmembran reseptörüne bağlanır (171). Zivcec ve arkadaşları, KKKA ile enfekte interferon alfa ve beta reseptör nakavt ($IFNAR^{-/-}$) farelerde hastalık progresyonunu takip etmiş ve bildirmişlerdir. KKKAV ile enfekte $IFNAR^{-/-}$ farelerde ölüme yol açan yüksek viral yüklere sahip akut fulminan hastalık tablosu geliştiğini ifade etmişlerdir (172). Bu durumlar, IFN alfa ve betanın mortalite üzerine etkili olabileceğine işaret etmektedir. Çalışmamızda da beklenildiği gibi, IFN alfa ve betanın mortalitenin dışlanmasında en güçlü tanısal performansa sahip olduğu tespit edilmiştir. Mortalitenin belirlenmesinde, IFN-alfa için pozitif kestirim değeri % 41, negatif kestirim değeri % 100, duyarlılık % 100 ve seçicilik % 51 (% 95 güven aralığı, EAA 0.66) ve IFN-beta için pozitif kestirim değeri % 33, negatif kestirim değeri % 100, duyarlılık % 100 ve seçicilik % 31 (% 95 güven aralığı, EAA 0.57)

olarak saptanmıştır (Tablo 4.7).

IRF-4, IRF transkripsiyon faktörleri ailesinin ekspresyonu büyük ölçüde lenfositlerle sınırlı olan bir üyesidir. Genetik çalışmalar ile IRF-4'ün olgun T ve B hücrelerinin işlevi için kritik olduğu gösterilmiştir (173). IRF-4'ün, B lenfositlerinin EBV aracılı transformasyonunda rol aldığı bildirilmiştir (174). IRF-4'ün, HTLV-1 ile enfekte olmuş hücrelerde yapısal olarak eksprese edildiği ifade edilmiştir (175). Çalışmamızda da beklenildiği şekilde virüs ile karşılaşmış olan hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre IRF-4'ün istatistiksel olarak anlamlı artmış düzeyi tespit edilmiştir (p=0.01), (Tablo 4.3).

Çalışmamızda hastaların ortalama yaşı 55.05±18.17 (yaş aralığı: 18 – 85) yıl olarak bulunmuştur (Tablo 4.1). Bu sonucumuz, literatürdeki diğer çalışmaların sonuçlarına benzerdir. Çeviker ve arkadaşları (176) yapmış oldukları çalışmada hastaların ortalama yaşını 51±24 yıl, Ömer ve Emine Füsun Karaşahin (177) 47.83 ± 17.46 yıl, Özbey (178) 51±16 yıl, Akyol ve arkadaşları (179) 50.37 ± 18.01 yıl olarak bildirmiştir. Bu sonuçlar, KKKA hastalığının üretken yaş aralığındaki insanları etkilediğini göstermektedir.

Hasta grubumuzun % 66.7'sini erkekler oluşturmuştur (Tablo 4.1). Ülkemizdeki KKKA olgularının % 90'ının çiftçilik ve hayvancılık uğraşı olduğu bilinmektedir (37,42,46). Bu durum, bölgemizdeki erkeklerin daha aktif olarak tarım ve hayvancılık işlerine katılmalarıyla açıklanabilir.

Tüm hastaların % 76.7'sinde ise kene teması öyküsü vardır (Tablo 4.2). Sonucumuz ülkemiz verileriyle uyumludur. Yılmaz ve arkadaşları, 2002-2007 yılları arasında KKKA tanısı alan olguların Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı sürveyans verilerini yayınladıkları çalışmada kene teması öyküsünün % 68.9 olduğunu bildirmişlerdir (180). Akyol ve arkadaşları ise olgularının % 87.5'inde kene teması öyküsü olduğunu belirtmişlerdir (179).

Hastalarımızda semptomların başlaması ile hastaneye başvuru arasında geçen süre ortalama 5±2 gün olarak saptanmıştır (Tablo 4.2). Bu süre birçok çalışmada (177,181,182) benzer zamanlar olarak bildirilmiş olmakla beraber virüse IFN ve IRF'lerin yanıtının optimal değerlendirilebilmesi için geç bir zamandır. Kohase ve

Vilcek yapmış olduğu çalışmada, insan FS-4 hücrelerinin NDV ile aşılanmasının, biri yaklaşık 5 saatte (erken yanıt) ve diğeri aşılamadan sonra maksimum 10 ila 24 saat arasında zirveye ulaşan (ikinci yanıt) iki ayrı interferon yanıtının indüklenmesiyle sonuçlandığını göstermiştir (183).

Bakır ve arkadaşları (46) fatal vakalarda INR, AST, LDH ve CK seviyelerinin daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Çevik ve arkadaşları (47) ise ≤ 20 x 10 (9) / l'lik trombositopeni, aPTT ≥ 60 saniye olacak şekilde uzama, melena varlığı ve somnolansı ölümle ilişkili bağımsız belirleyiciler olarak saptamıştır. Swanepoel ve arkadaşları (184) ise lökositozun fatalite için belirleyici olduğunu ifade etmiştir. Literatürde bağımsız ölüm prediktörlerini belirlemek için yapılmış çok sayıda çalışma vardır. Bununla birlikte, çalışmaların sonuçları heterojendir. Somnolans, gastrointestinal kanama, ishal, serum ALT düzeyinde yükselme, uzamış aPTT ve trombositopeni en sık bildirilen ölümle ilişkili bağımsız belirleyiciler olmuştur (185).

Çalışmamızda ise fatal vakalarda BUN (p<0.001), kreatin (p<0.001), AST (p=0.001), LDH (p<0.001), D-dimer (p=0.002), WBC (p<0.001), NEU (10^9/L) (p<0.001), LYM (10^9/L) (p=0.001), ferritin (p=0.008), IL-6 (p<0.001) değerlerinin daha yüksek, PT (p<0.001), INR (p<0.001), aPTT (p<0.001) değerlerinin daha uzun, fibrinojen (p<0.001), LYM (%) (p=0.049), PLT (p=0.002) seviyelerinin daha düşük olduğu bulunmuştur (Tablo 4.4). Ayrıca, yapılan korelasyon analizinde hastalarda IFN-alfa ile lenfosit sayısı (p<0.05, r=0.257) arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. IRF-1 ile platelet (p<0.01, r=0.338) ve fibrinojen (p<0.05, r=0.274) arasında pozitif korelasyon, BUN (p<0.05, r= -0.272), ALT (p<0.05, r= -0.317) AST (p<0.01, r= -0.365), LDH (p<0.05, r= -0.325), CK (p<0.01, r= -0.449), aPTT (p<0.05, r= -0.310) ve ferritin (p<0.05, r= -0.262) arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon bulunmuştur. IRF-2 ile aPTT (p<0.05, r=0.281) arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir. IRF-3 ile lenfosit sayısı (p<0.05, r=0.296) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 4.8).

Çalışmamızda IRF-1, 2, 3, 4, 7 ve IFN-alfa, beta düzeyleri tüm hastalarda KKKA'dan şüphelenildiğinde, ilk başvurusu sırasında alınan kan örneklerinden analiz edilmiştir. Bu nedenle enfeksiyonun farklı dönemleri ve fazları hakkında bilgi vermemektedir. Ancak yapılan çalışmalarda viral enfeksiyonların farklı zamanlarında

IRF'lerin ve IFN'lerin yanıtlarının farklı olabildiği bildirilmiştir. IRF ve IFN seviyelerinin zamansal olarak değerlendirildiği prospektif dizayndaki çalışmalar, viral enfeksiyon durumunda IRF ve IFN'lerin seyri hakkında bilgi verebilir.

Çalışmamızda, KKKA hastalarında ilk defa, IRF-1, 2, 3, 4, 7 seviyeleri incelenmiştir. KKKA hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek düzeyde IRF-2, 3, 4, 7 ve daha düşük düzeyde IRF-1 ekspresyonu tespit edilmiş ve bu düzeylerin KKKA enfeksiyonu ile değişim gösterebildiği görülmüştür. IRF-1 ile SGS arasında negatif yönde korelasyon bulunmuştur. IRF-1 düzeyi şiddetli grupta hafif gruba göre daha düşük bulunmuştur. Şiddetli hastalarda IRF-7 düzeyi hem hafif hem de orta şiddetli gruba göre daha yüksek saptanmıştır. Antiviral etkileri daha önce yeterince incelenmemiş olan IRF-2, çalışmamızda hastaların sağlıklı kontrollerden ayrılmasında en iyi belirteç olarak öne çıkmıştır. Çalışmamızın önemli sonuçlarından biri de mortalitenin dışlanmasında IFN-alfa, IFN-beta ve IRF-7'nin en güçlü tanısal performansa sahip olduğunun tespiti olmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. KKKA hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunda bulunan kişilerin IFN-alfa seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda kontrol grubuna göre IFN-alfanın istatistiksel olarak anlamlı artmış düzeyi saptanmıştır (p<0.001).
2. KKKA hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunda bulunan kişilerin IFN-beta seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda kontrol grubuna göre IFN-betanın istatistiksel olarak anlamlı artmış düzeyi saptanmıştır (p<0.001).
3. KKKA hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunda bulunan kişilerin IRF-1 seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda kontrol grubuna göre IRF-1'in istatistiksel olarak anlamlı azalmış düzeyi saptanmıştır (p=0.049).
4. KKKA hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunda bulunan kişilerin IRF-2 seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda kontrol grubuna göre IRF-2'nin istatistiksel olarak anlamlı artmış düzeyi saptanmıştır (p<0.001).
5. KKKA hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunda bulunan kişilerin IRF-3 seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda kontrol grubuna göre IRF-3'ün istatistiksel olarak anlamlı artmış düzeyi saptanmıştır (p<0.001).
6. KKKA hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunda bulunan kişilerin IRF-4 seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda kontrol grubuna göre IRF-4'ün istatistiksel olarak anlamlı artmış düzeyi saptanmıştır (p=0.01).
7. KKKA hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunda bulunan kişilerin IRF-7 seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda kontrol grubuna göre IRF-7'nin istatistiksel olarak anlamlı artmış düzeyi saptanmıştır (p<0.001).
8. Yaşayan hasta grubu ile ölen hasta grubunda bulunan kişilerin IFN-alfa seviyeleri karşılaştırıldığında, iki grup arasında IFN-alfa açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir (p=0.069).
9. Yaşayan hasta grubu ile ölen hasta grubunda bulunan kişilerin IFN-beta seviyeleri karşılaştırıldığında, iki grup arasında IFN-beta açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir (p=0.427).
10. Yaşayan hasta grubu ile ölen hasta grubunda bulunan kişilerin IRF-1 seviyeleri karşılaştırıldığında, iki grup arasında IRF-1 açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir (p=0.08).

11. Yaşayan hasta grubu ile ölen hasta grubunda bulunan kişilerin IRF-2 seviyeleri karşılaştırıldığında, iki grup arasında IRF-2 açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir (p=0.222).
12. Yaşayan hasta grubu ile ölen hasta grubunda bulunan kişilerin IRF-3 seviyeleri karşılaştırıldığında, iki grup arasında IRF-3 açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir (p=0.141).
13. Yaşayan hasta grubu ile ölen hasta grubunda bulunan kişilerin IRF-4 seviyeleri karşılaştırıldığında, iki grup arasında IRF-4 açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir (p=0.798).
14. Yaşayan hasta grubu ile ölen hasta grubunda bulunan kişilerin IRF-7 seviyeleri karşılaştırıldığında, iki grup arasında IRF-7 açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir (p=0.063).
15. IRF-1 ile SGS arasında negatif yönde korelasyon bulunmuştur (p<0.05, r= -0.286).
16. IRF-1 düzeyi şiddetli grupta hafif gruba göre daha düşük bulunmuştur (p=0.036).
17. Şiddetli klinik seyirli hastalarda IRF-7 düzeyi hem hafif hem de orta şiddette klinik gösteren gruba göre daha yüksektir (p=0.019).
18. Hastaların sağlıklı kontrollerden ayrılmasında en iyi belirteç IRF-2 olarak tespit edilmiştir. Hastalık durumunun belirlenmesinde, IRF-2 için pozitif kestirim değeri % 92, negatif kestirim değeri % 62, duyarlılık % 73 ve seçicilik % 87 (% 95 güven aralığı, EAA 0.83) olarak saptanmıştır.
19. Mortalitenin dışlanmasında IFN-alfa, IFN-beta ve IRF-7'nin en güçlü tanısal performansa sahip olduğu tespit edilmiştir. Mortalitenin belirlenmesinde, IFN-alfa için pozitif kestirim değeri % 41, negatif kestirim değeri % 100, duyarlılık % 100 ve seçicilik % 51 (% 95 güven aralığı, EAA 0.66), IFN-beta için pozitif kestirim değeri % 33, negatif kestirim değeri % 100, duyarlılık % 100 ve seçicilik % 31 (% 95 güven aralığı, EAA 0.57) ve IRF-7 için pozitif kestirim değeri % 34, negatif kestirim değeri % 100, duyarlılık % 100 ve seçicilik % 36 (%95 güven aralığı, EAA 0.66) olarak saptanmıştır.
20. IFN-alfa ile lenfosit sayısı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (p<0.05, r=0.257).
21. IRF-1 ile platelet (p<0.01, r=0.338) ve fibrinojen (p<0.05, r=0.274) arasında pozitif korelasyon saptanmıştır.

22. IRF-1 ile BUN (p<0.05, r= -0.272), ALT (p<0.05, r= -0.317) AST (p<0.01, r= -0.365), LDH (p<0.05, r= -0.325), CK (p<0.01, r= -0.449), aPTT (p<0.05, r= -0.310) ve ferritin (p<0.05, r= -0.262) arasında negatif korelasyon saptanmıştır.
23. IRF-2 ile aPTT arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (p<0.05, r=0.281).
24. IRF-3 ile lenfosit sayısı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (p<0.05, r=0.296).

KKKA hastalarında ilk defa, IRF-1, 2, 3, 4, 7 düzeyleri değerlendirilmiştir. Bulgularımız KKKA hastalığı patogenezinde IRF-1, 2, 3, 4, 7'nin etkili olduğunu göstermiştir. Bu durum KKKA enfeksiyonunun patogenezini aydınlatmada ve terapötik hedefler belirlemede IRF'leri önemli bir seçenek olarak sunmuştur. Fakat IRF'lerin KKKAV ve KKKA hastalığındaki rollerinin aydınlatılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

1. Papa A, Mirazimi A, Köksal I, Estrada-Pena A, Feldmann H. Recent advances in research on Crimean-Congo hemorrhagic fever. J Clin Virol. 2015;64:137–43.

2. Shahhosseini N, Wong G, Babuadze G, Camp J V, Ergonul O, Kobinger GP, vd. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Asia, Africa and Europe. Microorganisms. 2021;9(9):1–24.

3. Raabe V. Diagnostic Testing for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. J Clin Microbiol. 2020;58(4):e01580-19.

4. Hawman DW, Feldmann H. Recent advances in understanding Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. F1000Research. 2018;7(0):1–10.

5. Dai S, Deng F, Wang H, Ning Y. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: Current advances and future prospects of antiviral strategies. Viruses. 2021;13(7):1–10.

6. Nehyba J, Hrdličková R, Bose HR. Dynamic evolution of immune system regulators: The history of the interferon regulatory factor family. Mol Biol Evol. 2009;26(11):2539–50.

7. Ozato K, Tailor P, Kubota T. The interferon regulatory factor family in host defense: Mechanism of action. J Biol Chem [Internet]. 2007;282(28):20065–9. Available at: http://dx.doi.org/10.1074/jbc.R700003200

8. Papa A, Tsergouli K, Tsioka K, Mirazimi A. Crimean-Congo hemorrhagic fever: Tick-host-virus interactions. Front Cell Infect Microbiol. 2017;7(MAY):1–7.

9. Bonney LC, Watson RJ, Afrough B, Mullojonova M, Dzhuraeva V, Tishkova F, et al. A recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection. PLoS Negl Trop Dis. 2017;11(10): e0006013.

10. Gürbüz E, Ekici A, Ünlü AH, Yilmaz H. Evaluation of seroprevalence and

clinical and laboratory findings of patients admitted to health institutions in Gümüşhane with suspicion of Crimean-Congo hemorrhagic fever. Turkish J Med Sci. 2021;51(4):1825–32.

11. Shayan S, Bokaean M, Shahrivar MR, Chinikar S. Crimean-Congo hemorrhagic fever. Lab Med. 2015;46(3):180–9.

12. Çitil R, Eğri M, Önder Y, Duygu F, Bulut YE, Yaşayancan Ö, vd. Determination of Seroprevalence and Risk Factors of Crimean-Congo Haemorrhagic Fever (CCHF) in the Endemic Region in Turkey: A Population-Based Cross-Sectional Study. J Trop Med. 2021;2021:1–10.

13. Temur AI, Kuhn JH, Pecor DB, Apanaskevich DA, Keshtkar-Jahromi M. Epidemiology of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) in Africa—Underestimated for Decades. Am J Trop Med Hyg. 2021;104(6):1978–90.

14. https://www.who.int/images/default-source/health-topics/crimean-congo-haemorrhagic-fever/global-cchfrisk-2017.png?sfvrsn=4b961c4c_6 (25/10/2022) [Internet]. Available at: https://www.who.int/images/default-source/health-topics/crimean-congo-haemorrhagic-fever/global-cchfrisk-2017.png?sfvrsn=4b961c4c_6

15. Yilmaz GR, Buzgan T, Torunoglu MA, Safran A, Irmak H, Com S, vd. A preliminary report on Crimean-Congo haemorrhagic fever in Turkey, March - June 2008. Euro Surveill. 2008;13(33):1–3.

16. https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoonotikvektorel-kkka/zoonotikvektorel-kkka-istatistik (25/10/22).

17. Gök ŞE. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi. Okmeydanı Tıp Derg. 2016;32(Ek Sayı):13–9.

18. Elaldı N. Kırım-Kongo Hemorajik Ateş Epidemiyolojisi. C Ü Tıp Fakültesi Derg. 2004;26(4):185–90.

19. Donets MA, Chumakov MP, Korolev MB, Rubin SG. Physicochemical characteristics, morphology and morphogenesis of virions of the causative agent of Crimean hemorrhagic fever. Intervirology. 1977;8(5):294–308.

20. Flick R, Flick K, Feldmann H, Elgh F. Reverse Genetics for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus. J Virol. 2003;77(10):5997–6006.

21. Bente DA, Forrester NL, Watts DM, McAuley AJ, Whitehouse CA, Bray M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. Antiviral Res [Internet]. 2013;100(1):159–89. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.07.006

22. Erickson BR, Deyde V, Sanchez AJ, Vincent MJ, Nichol ST. N-linked glycosylation of Gn (but not Gc) is important for Crimean Congo hemorrhagic fever virus glycoprotein localization and transport. Virology. 2007;361(2):348–55.

23. Portillo A, Palomar AM, Santibáñez P, Oteo JA. Epidemiological aspects of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Western Europe: What about the future? Microorganisms. 2021;9(3):1–19.

24. Kalaycioglu T, Durmaz R, Uyar Y, Unaldi O, Aksekili E, Ozkul A, vd. Lack of genetic diversity in Crimean-Congo hemorrhagic fever viruses in Turkey: Assessment of present and future patterns of disease. J Med Virol. 2012;84(3):471–8.

25. Aldemir O. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Hastalarında miRNA-1908 ve miRNA-144 RNA İfade Düzeylerinin Araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sivas, 84s., 2019.

26. Gozel MG, Bakir M, Oztop AY, Engin A, Dokmetas I, Elaldi N. Investigation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus transmission from patients to relatives: A prospective contact tracing study. Am J Trop Med Hyg. 2014;90(1):160–2.

27. Tsergouli K, Karampatakis T, Haidich AB, Metallidis S, Papa A. Nosocomial infections caused by Crimean–Congo haemorrhagic fever virus. J Hosp Infect [Internet]. 2020;105(1):43–52. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.12.001

28. Aradaib IE, Erickson BR, Mustafa ME, Khristova ML, Saeed NS, Elageb RM, vd. Nosocomial outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever, Sudan. Emerg Infect Dis. 2010;16(5):837–9.

29. Guner R, Hasanoglu I, Tasyaran MA, Yapar D, Keske S, Guven T, vd. Is ribavirin prophylaxis effective for nosocomial transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever? Vector-Borne Zoonotic Dis. 2014;14(8):601–5.

30. Gonzalez JP, Camicas JL, Cornet JP, Faye O, Wilson ML. Sexual and transovarian transmission of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Hyalomma truncatum ticks. Res Virol. 1992;143(C):23–8.

31. Weber F, Mirazimi A. Interferon and cytokine responses to Crimean Congo hemorrhagic fever virus; an emerging and neglected viral zonoosis. Cytokine Growth Factor Rev. 2008;19(5–6):395–404.

32. Bevilacqua MP, Nelson RM, Mannori G, Cecconi O. Endothelial-leukocyte adhesion molecules in human disease. Annu Rev Med. 1994;45:361–78.

33. Bevilacqua MP. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. Annu Rev Immunol. 1993;11:767–804.

34. Bodur H, Akinci E, Öngürü P, Uyar Y, Baştürk B, Gözel MG, vd. Evidence of vascular endothelial damage in Crimean-Congo hemorrhagic fever. Int J Infect Dis. 2010;14(8):704–7.

35. Doğan HO, Büyüktuna SA, Kapancik S, Bakir S. Evaluation of the associations between endothelial dysfunction, inflammation and coagulation in Crimean-Congo hemorrhagic fever patients. Arch Virol. 2018;163(3):609–16.

36. Çevik MA, Erbay A, Bodur H, Eren SS, Akinci E, Şener K, vd. Viral load as a predictor of outcome in Crimean-Congo hemorrhagic fever. Clin Infect Dis. 2007;45(7):96–100.

37. Karti SS, Odabasi Z, Korten V, Yilmaz M, Sonmez M, Caylan R, vd. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. Emerg Infect Dis. 2004;10(8):1379–84.

38. Ergonul O, Tuncbilek S, Baykam N, Celikbas A, Dokuzoguz B. Evaluation of

serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor-α in patients with Crimean-Congo hernorrhagic fever. J Infect Dis. 2006;193(7):941–4.

39. Papa A, Bino S, Velo E, Harxhi A, Kota M, Antoniadis A. Cytokine levels in Crimean-Congo hemorrhagic fever. J Clin Virol. 2006;36(4):272–6.

40. Akinci E, Yilmaz M, Bodur H, Öngürü P, Bayazit FN, Erbay A, vd. Analysis of lymphocyte subgroups in Crimean-Congo hemorrhagic fever. Int J Infect Dis. 2009;13(5):560–3.

41. Sağmak Tartar A, Balın ŞÖ, Akbulut A, Demirdağ K. Crimean Congo Hemorrhagic Fever in Eastern Turkey: Epidemiological and Clinical Evaluation. Turkiye parazitolojii Derg. 2019;43(1):26–9.

42. Ergonul O. Crimean-Congo haemorrhagic fever. Lancet İnfect Dis. 2006;(6):203–14.

43. Madison-antenucci S, Kramer LD, Gebhardt LL. Emerging Tick-Borne Diseases. 2020;33(2):1–34.

44. Ergonul O. Türkiye'de Yeni Bir Enfeksiyon : Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. Sted. 2006;15(6):98–106.

45. Özkurt Z. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi. Yoğun Bakım Derg. 2007;7(1):85–90.

46. Bakir M, Ugurlu M, Dokuzoguz B, Bodur H, Tasyaran MA, Vahaboglu H. Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: A multicentre study of clinical features and outcome measures. J Med Microbiol. 2005;54(4):385–9.

47. Çevik MA, Erbay A, Bodur H, Gülderen E, Baştuğ A, Kubar A, vd. Clinical and laboratory features of Crimean-Congo hemorrhagic fever: predictors of fatality. Int J Infect Dis. 2008;12(4):374–9.

48. Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. Antiviral Res. 2004;64(3):145–60.

49. Charrel RN, Attoui H, Butenko AM, Clegg JC, Deubel V, Frolova T V., vd. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. Clin Microbiol Infect.

2004;10(12):1040–55.

50. Zandi M, Rasooli A, Soltani S, Teymouri S, Mohammadi S, Abbasi S. Biosensor-based methods for Crimean-Congo hemorrhagic fever virus detection. J Vector Borne Dis. 2021;58(4):383–5.

51. Burt FJ, Leman PA, Abbott JC, Swanepoel R. Serodiagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever. Epidemiol Infect. 1994;113(3):551–62.

52. Zeller H. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective. Chapter: Laboratory Diagnosis of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, 233-243, Springer, 352p., 2007. Içinde.

53. Wölfel R, Paweska JT, Petersen N, Grobbelaar AA, Leman PA, Hewson R, vd. Virus detection and monitoring of viral load in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus patients. Emerg Infect Dis. 2007;13(7):1097–100.

54. Drosten C, Kümmerer BM, Schmitz H, Günther S. Molecular diagnostics of viral hemorrhagic fevers. Antiviral Res. 2003;57(1–2):61–87.

55. Öztürk DB, Gürbüz Y, Tütüncü EE, Kuşcu F, Şencan İ. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Ayırıcı Tanısı: Altı Olgu. Flora. 2010;15(2):90–4.

56. Büyüktuna SA, Hasbek M, Öksüz C, Baysal C, Öz M, Elaldı N, vd. Covid-19 co-infection in a patient with Crimean Congo hemorrhagic fever: A case report. Mikrobiyol Bul. 2021;55(3):445–51.

57. Leblebicioglu H, Bodur H, Dokuzoguz B, Elaldi N, Guner R, Koksal I, vd. Case management and supportive treatment for patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. Vector-Borne Zoonotic Dis. 2012;12(9):805–11.

58. Graci JD, Cameron CE. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. Rev Med Virol. 2006;16(1):37–48.

59. Watts DM, Ussery MA, Nash D PC. Inhibition of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Viral Infectivity Yields in Vitro by Ribavirin. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 1989;41(5):581–5. Available at: doi:10.4269/ajtmh.1989.41.581

60. Johnson S, Henschke N, Maayan N, Mills I, Buckley BS, Kakourou A, vd.

Ribavirin for treating Crimean Congo haemorrhagic fever. Cochrane Database Syst Rev. 2018;2018(6).

61. Elaldi N, Bodur H, Ascioglu S, Celikbas A, Ozkurt Z, Vahaboglu H, vd. Efficacy of oral ribavirin treatment in Crimean-Congo haemorrhagic fever: A quasi-experimental study from Turkey. J Infect [Internet]. 2009;58(3):238–44. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2009.01.014

62. Tasdelen Fisgin N, Ergonul O, Doganci L, Tulek N. The role of ribavirin in the therapy of Crimean-Congo hemorrhagic fever: Early use is promising. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009;28(8):929–33.

63. Delang L, Abdelnabi R, Neyts J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. Antiviral Res [Internet]. 2018;153:85–94. Available at: https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.03.003

64. Kaptein SJF, Jacobs S, Langendries L, Seldeslachts L, ter Horst S, Liesenborghs L, vd. Favipiravir at high doses has potent antiviral activity in SARS-CoV-2−infected hamsters, whereas hydroxychloroquine lacks activity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020;117(43):26955–65.

65. Furuta Y, Gowen BB, Takahashi K, Shiraki K, Smee DF, Barnard DL. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. Antiviral Res [Internet]. 2013;100(2):446–54. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.09.015

66. Hawman DW, Haddock E, Meade-White K, Williamson B, Hanley PW, Rosenke K, vd. Favipiravir (T-705) but not ribavirin is effective against two distinct strains of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in mice. Antiviral Res [Internet]. 2018;157:18–26. Available at: https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.06.013

67. Oestereich L, Rieger T, Neumann M, Bernreuther C, Lehmann M, Krasemann S, vd. Evaluation of Antiviral Efficacy of Ribavirin, Arbidol, and T-705 (Favipiravir) in a Mouse Model for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. PLoS Negl Trop Dis. 2014;8(5).

68. Hawman DW, Haddock E, Meade-White K, Nardone G, Feldmann F, Hanley PW, vd. Efficacy of favipiravir (T-705) against Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection in cynomolgus macaques. Antiviral Res [Internet]. 2020;181(April):104858. Available at: https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104858

69. Welch RS, Scholte FEM, Flint M, Chatterjee P NS, Bergeron E SC. Identification of 2′-deoxy-2′-fluorocytidine as a potent inhibitor of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus replication using a recombinant fluorescent reporter virus. Antiviral Res. 2017;147:91–9.

70. Ferraris O, Moroso M, Pernet O, Emonet S, Ferrier Rembert A, Paranhos-Baccalà G, vd. Evaluation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in vitro inhibition by chloroquine and chlorpromazine, two FDA approved molecules. Antiviral Res [Internet]. 2015;118:75–81. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.03.005

71. Zhou JH, Wang YN, Chang QY, Ma P, Hu Y, Cao X. Type III interferons in viral infection and antiviral immunity. Cell Physiol Biochem. 2018;51(1):173–85.

72. Kozak RA, Fraserid RS, Biondi MJ, Majer A, Medina SJ, Griffin BD, vd. Dual RNA-seq characterization of host and pathogen gene expression in liver cells infected with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2020;14(4):1–16. Available at: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0008105

73. Andersson I, Bladh L, Mousavi-Jazi M, Magnusson K-E, Lundkvist Å, Haller O, vd. Human MxA Protein Inhibits the Replication of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus. J Virol. 2004;78(8):4323–9.

74. Andersson I, Karlberg H, Mousavi-Jazim M, Sobrido LM, Weber F MA. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Delays Activation of the Innate Immune Response. J Med Virol. 2008;80:1397–404.

75. Bordi L, Lalle E, Caglioti C, Travaglini D, Lapa D, Marsella P, vd. Antagonistic antiviral activity between IFN-lambda and IFN-alpha against Lethal Crimean-

Congo hemorrhagic fever virus in vitro. PLoS One. 2015;10(2):1–7.

76. Buttigieg KR, Dowall SD, Findlay-Wilson S, Miloszewska A, Rayner E, Hewson R, vd. A novel vaccine against Crimean-Congo haemorrhagic fever protects 100% of animals against lethal challenge in a mouse model. PLoS One. 2014;9(3).

77. Dowall SD, Graham VA, Rayner E, Hunter L, Watson R, Taylor I, vd. Protective effects of a modified Vaccinia Ankara-based vaccine candidate against Crimean-Congo Haemorrhagic Fever virus require both cellular and humoral responses. PLoS One. 2016;11(6):1–13.

78. Vassilenko SM, Vassilev TL, Bozadjiev LG, Bineva IL, Kazarov GZ. Specific intravenous immunoglobulin for Crimean-Congo haemorrhagic fever. Lancet. 1990;335(8692):791–2.

79. Beştepe Dursun Z, Korkmaz S, Türe Z, Kaynar L, Dursun A, Çelik İ. Efficacy of therapeutic plasma exchange in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. J Clin Apher. 2021;36(3):390–7.

80. Kırdar S, Ertuğrul B. Kırım Kongo kanamalı ateşi. ADÜ Tıp Fakültesi Derg. 2009;10(2):45–52.

81. Ergönül Ö. Kırım-Kongo kanamalı ateşi tedavisi ve ribavirin kullanımı. Klimik Derg. 2016;29(1):2–9.

82. Dowall SD, Carroll MW, Hewson R. Development of vaccines against Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. Vaccine [Internet]. 2017;35(44):6015–23. Available at: https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.05.031

83. Vilcek J. Fifty Years of Interferon Research: Aiming at a Moving Target. Immunity. 2006;25(3):343–8.

84. Hervas-Stubbs S, Perez-Gracia JL, Rouzaut A, Sanmamed MF, Le Bon A, Melero I. Direct effects of type I interferons on cells of the immune system. Clin Cancer Res. 2011;17(9):2619–27.

85. Ivashkiv LB, Donlin LT. Regulation of type I interferon responses. Nat Rev Immunol. 2014;14(1):36–49.

86. Decker T, Müller M, Stockinger S. The Yin and Yang of type I interferon activity in bacterial infection. Nat Rev Immunol. 2005;5(9):675–87.

87. Hida S, Ogasawara K, Sato K, Abe M, Takayanagi H, Yokochi T, vd. CD8 T Cell-Mediated Skin Disease in Mice Lacking IRF-2, the Transcriptional Attenuator of Interferon-/ Signaling protein tyrosine phosphatase SHP-1 is induced and in-hibits EPO response (Klingmuller et al., 1995). Recently, a family of feedback inhibitors. Immunology. 2000;13:643–55.

88. Platanias LC. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. Nat Rev Immunol. 2005;5(5):375–86.

89. Negishi H, Taniguchi T, Yanai H. The interferon (IFN) class of cytokines and the IFN regulatory factor (IRF) transcription factor family. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2018;10(11).

90. Takaoka A, Mitani Y, Suemorİ H, Sato M, Yokochi T, Noguchi S, vd. Cross Talk Between Interferon-y and -Alfa-Beta Signaling Components in Caveolar Membrane Domains. Science (80-). 2000;288(5475):2357–60.

91. Lazear HM, Nice TJ, Diamond MS. Interferon-λ: Immune Functions at Barrier Surfaces and Beyond. Immunity [Internet]. 2015;43(1):15–28. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2015.07.001

92. Uzé G, Monneron D. IL-28 and IL-29: Newcomers to the interferon family. Biochimie. 2007;89(6–7):729–34.

93. Paun A, Pitha PM. The IRF family, revisited. Biochimie. 2007;89(6–7):744–53.

94. Suzuki Y, Yasuike M, Kondo H, Aoki T, Hirono I. Molecular cloning and expression analysis of interferon regulatory factor 10 (IRF10) in Japanese flounder, Paralichthys olivaceus. Fish Shellfish Immunol [Internet]. 2011;30(1):67–76. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2010.09.010

95. Yanai H, Negishi H, Taniguchi T. The IRF family of transcription factors inception, impact and implications in oncogenesis. Oncoimmunology. 2012;1(8):1376–86.

96. Darnell JE, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT Pathways and Transcriptional Activation in Response to IFNs and Other Extracellular Signaling Proteins. Science (80-). 1994;264(5164):1415–21.

97. Fujii Y, Shimizu T, Kusumoto M, Kyogoku Y, Taniguchi T, Hakoshima T. Crystal structure of an IRF-DNA complex reveals novel DNA recognition and cooperative binding to a tandem repeat of core sequences. EMBO J. 1999;18(18):5028–41.

98. Mamane Y, Heylbroeck C, Génin P, Algarté M, Servant MJ, Lepage C, vd. Interferon regulatory factors: The next generation. Gene. 1999;237(1):1–14.

99. Takaoka A, Tamura T, Taniguchi T. Interferon regulatory factor family of transcription factors and regulation of oncogenesis. Cancer Sci. 2008;99(3):467–78.

100. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. Cell. 2006;124(4):783–801.

101. Savitsky D, Tamura T, Yanai H, Taniguchi T. Regulation of immunity and oncogenesis by the IRF transcription factor family. Cancer Immunol Immunother. 2010;59(4):489–510.

102. Kato H, Takeuchi O, Sato S, Yoneyama M, Yamamoto M, Matsui K, vd. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. Nature. 2006;441(1):101–5.

103. Sharma S, TenOever BR, Grandvaux N, Zhou GP, Lin R, Hiscott J. Triggering the interferon antiviral response through an IKK-related pathway. Science (80-). 2003;300(5622):1148–51.

104. Panne D, McWhirter SM, Maniatis T, Harrison SC. Interferon regulatory factor 3 is regulated by a dual phosphorylation- dependent switch. J Biol Chem [Internet]. 2007;282(31):22816–22. Available at:

http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M703019200

105. Honda K, Taniguchi T. IRFs: Master regulators of signalling by Toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors. Nat Rev Immunol. 2006;6(9):644–58.

106. Yanai H, Chen HM, Inuzuka T, Kondo S, Mak TW, Takaoka A, vd. Role of IFN regulatory factor 5 transcription factor in antiviral immunity and tumor suppression. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(9):3402–7.

107. Paun A, Reinert JT, Jiang Z, Medin C, Balkhi MY, Fitzgerald KA, vd. Functional characterization of murine interferon regulatory factor 5 (IRF-5) and its role in the innate antiviral response. J Biol Chem. 2008;283(21):14295–308.

108. Barnes BJ, Field AE, Pitha-Rowe PM. Virus-induced heterodimer formation between IRF-5 and IRF-7 modulates assembly of the IFNA enhanceosome in vivo and transcriptional activity of IFNA genes. J Biol Chem. 2003;278(19):16630–41.

109. Lin R, Yang L, Arguello M, Penafuerte C, Hiscott J. A CRM1-dependent nuclear export pathway is involved in the regulation of IRF-5 subcellular localization. J Biol Chem. 2005;280(4):3088–95.

110. Tailor P, Tamura T, Kong HJ, Kubota T, Kubota M, Borghi P, vd. The Feedback Phase of Type I Interferon Induction in Dendritic Cells Requires Interferon Regulatory Factor 8. Immunity. 2007;27(2):228–39.

111. Stetson DB, Medzhitov R. Recognition of cytosolic DNA activates an IRF3-dependent innate immune response. Immunity. 2006;24(1):93–103.

112. Ishii KJ, Coban C, Kato H, Takahashi K, Torii Y, Takeshita F, vd. A toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. Nat Immunol. 2006;7(1):40–8.

113. Takaoka A, Wang Z, Choi MK, Yanai H, Negishi H, Ban T, vd. DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response. Nature. 2007;448(7152):501–5.

114. Wang ZC, Choi MK, Ban T, Yanai H, Negishi H, Lu Y, vd. Regulation of innate immune responses by DAI (DLM-1/ZBP1) and other DNA-sensing molecules. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105(14):5477–82.

115. Stetson DB, Ko JS, Heidmann T, Medzhitov R. Trex1 Prevents Cell-Intrinsic Initiation of Autoimmunity. Cell. 2008;134(4):587–98.

116. Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. Nature. 2008;455(7213):674–8.

117. Zhong B, Yang Y, Li S, Wang YY, Li Y, Diao F, vd. The Adaptor Protein MITA Links Virus-Sensing Receptors to IRF3 Transcription Factor Activation. Immunity [Internet]. 2008;29(4):538–50. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2008.09.003

118. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. Nat Rev Immunol. 2001;Nov;1(2):135–45.

119. Kawai T, Akira S. TLR signaling. Cell Death Differ. 2006;13(5):816–25.

120. Wathelet MG, Lin CH, Parekh BS, Ronco L V., Howley PM, Maniatis T. Virus infection induces the assembly of coordinately activated transcription factors on the IFN-β enhancer in vivo. Mol Cell. 1998;1(4):507–18.

121. Kawai T, Takeuchi O, Fujita T, Inoue J, Mühlradt PF, Sato S, vd. Lipopolysaccharide Stimulates the MyD88-Independent Pathway and Results in Activation of IFN-Regulatory Factor 3 and the Expression of a Subset of Lipopolysaccharide-Inducible Genes. J Immunol. 2001;167(10):5887–94.

122. Sakaguchi S, Negishi H, Asagiri M, Nakajima C, Mizutani T, Takaoka A, vd. Essential role of IRF-3 in lipopolysaccharide-induced interferon-β gene expression and endotoxin shock. Biochem Biophys Res Commun. 2003;306(4):860–6.

123. Honda K, Takaoka A, Taniguchi T. Type I Inteferon Gene Induction by the Interferon Regulatory Factor Family of Transcription Factors. Immunity. 2006;25(3):349–60.

124. Flandin JF, Chano F, Descoteaux A. RNA interference reveals a role for TLR2 and TLR3 in the recognition of Leishmania donovani promastigotes by interferon-γ-primed macrophages. Eur J Immunol. 2006;36(2):411–20.

125. Negishi H, Osawa T, Ogami K, Ouyang X, Sakaguchi S, Koshiba R, vd. A critical link between Toll-like receptor 3 and type II interferon signaling pathways in antiviral innate immunity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105(51):20446–51.

126. Tabeta K, Georgel P, Janssen E, Du X, Hoebe K, Crozat K, vd. Toll-like receptors 9 and 3 as essential complonents of innate immune defense against mouse Cytomegalovirus infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101(10):3516–21.

127. Zhang SY, Jouanguy E, Ugolini S, Smahi A, Elain G, Romero P, vd. TLR3 deficiency in patients with Herpes simplex encephalitis. Science (80-). 2007;317(5844):1522–7.

128. Hoebe K, Du X, Georgel P, Janssen E, Tabeta K, Kim SO, vd. Identification of Lps2 as a key transducer of MyD88-independent TIR signalling. Nature. 2003;424(6950):743–8.

129. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H. Role of Adaptor TRIF in the MyD88-Independent Toll-Like Receptor Signaling Pathway. Science (80-) [Internet]. 2003;301(August):640–3. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12855817

130. Negishi H, Fujita Y, Yanai H, Sakaguchi S, Ouyang X, Shinohara M, vd. Evidence for licensing of IFN-γ-induced IFN regulatory factor 1 transcription factor by MyD88 in Toll-like receptor-dependent gene induction program. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(41):15136–41.

131. Yarilina A, Park-Min KH, Antoniv T, Hu X, Ivashkiv LB. TNF activates an IRF1-dependent autocrine loop leading to sustained expression of chemokines and STAT1-dependent type I interferon-response genes. Nat Immunol. 2008;9(4):378–87.

132. Li K, Foy E, Ferreon JC, Nakamura M, Ferreon ACM, Ikeda M, vd. Immune evasion by hepatitis C virus NS3/4A protease-mediated cleavage of the Toll-like receptor 3 adaptor protein TRIF. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(8):2992–7.

133. Barro M, Patton JT. Rotavirus NSP1 Inhibits Expression of Type I Interferon by Antagonizing the Function of Interferon Regulatory Factors IRF3, IRF5, and IRF7. J Virol. 2007;81(9):4473–81.

134. Yu Y, Wang SE, Hayward GS. The KSHV immediate-early transcription factor RTA encodes ubiquitin E3 ligase activity that targets IRF7 for proteosome-mediated degradation. Immunity. 2005;22(1):59–70.

135. Burýšek L, Yeow W-S, Lubyová B, Kellum M, Schafer SL, Huang YQ, vd. Functional Analysis of Human Herpesvirus 8-Encoded Viral Interferon Regulatory Factor 1 and Its Association with Cellular Interferon Regulatory Factors and p300. J Virol. 1999;73(9):7334–42.

136. Lin R, Genin P, Mamane Y, Sgarbanti M, Battistini A, Harrington WJ, vd. HHV-8 encoded vIRF-1 represses the interferon antiviral response by blocking IRF-3 recruitment of the CBP/p300 coactivators. Oncogene. 2001;20(7):800–11.

137. Joo CH, Shin YC, Gack M, Wu L, Levy D, Jung JU. Inhibition of Interferon Regulatory Factor 7 (IRF7)-Mediated Interferon Signal Transduction by the Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Viral IRF Homolog vIRF3. J Virol. 2007;81(15):8282–92.

138. Wies E, Hahn AS, Schmidt K, Viebahn C, Rohland N, Lux A, vd. The Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded vIRF-3 inhibits cellular IRF-5. J Biol Chem. 2009;284(13):8525–38.

139. Kanda T, Yajima M, Ikuta K. Epstein-Barr virus strain variation and cancer. Cancer Sci. 2019;110(4):1132–9.

140. Ning S, Campos AD, Darnay BG, Bentz GL, Pagano JS. TRAF6 and the Three C-Terminal Lysine Sites on IRF7 Are Required for Its Ubiquitination-Mediated

Activation by the Tumor Necrosis Factor Receptor Family Member Latent Membrane Protein 1. Mol Cell Biol. 2008;28(20):6536–46.

141. Song YJ, Izumi KM, Shinners NP, Gewurz BE, Kieff E. IRF7 activation by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 requires localization at activation sites and TRAF6, but not TRAF2 or TRAF3. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105(47):18448–53.

142. Szymonowicz KA, Chen J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. Cancer Biol Med. 2020;17(4):864–78.

143. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: From basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer. 2002;2(5):342–50.

144. Park JS, Kim EJ, Kwon HJ, Hwang ES, Namkoong SE, Um SJ. Inactivation of interferon regulatory factor-1 tumor suppressor protein by HPV E7 oncoprotein. Implication for the E7-mediated immune evasion mechanism in cervical carcinogenesis. J Biol Chem. 2000;275(10):6764–9.

145. Ronco L V., Karpova AY, Vidal M, Howley PM. Human papillomavirus 16 E6 oncoprotein binds to interferon regulatory factor-3 and inhibits its transcriptional activity. Genes Dev. 1998;12(13):2061–72.

146. Ramanan P, Shabman RS, Brown CS, Amarasinghe GK, Basler CF, Leung DW. Filoviral immune evasion mechanisms. Viruses. 2011;3(9):1634–49.

147. Chen H-W, King K, Tu J, Sanchez M, Luster AD, Shresta S. The Roles of IRF-3 and IRF-7 in Innate Antiviral Immunity against Dengue Virus. J Immunol. 2013;191(8):4194–201.

148. Bakır M, Gözel MG, Köksal, Aşık Z, Günal, Yılmaz H, vd. Validation of a severity grading score (SGS) system for predicting the course of disease and mortality in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF). Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015;34(2):325–30.

149. Goksuluk D, Korkmaz S, Zararsiz G, Karaagaoglu AE. EasyROC: An interactive web-tool for roc curve analysis using r language environment. R J. 2016;8(2):213–30.

150. Chen JP, Cosgriff TM. Hemorrhagic fever virus-induced changes in hemostasis and vascular biology. Blood Coagul Fibrinolysis. 2000;11(5):461–83.

151. Ergonul O. Crimean – Congo hemorrhagic fever virus : new outbreaks , new discoveries. Curr Opin Virol [Internet]. 2012;2(2):215–20. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2012.03.001

152. Lawler C, Brady G. Poxviral Targeting of Interferon Regulatory Factor Activation. Viruses. 2020;12:1191; doi:10.3390/v12101191.

153. Dai J, Megjugorac NJ, Amrute SB, Fitzgerald-bocarsly P. Regulation of IFN Regulatory Factor-7 and IFN- α Production by Enveloped Virus and Lipopolysaccharide in Human Plasmacytoid Dendritic Cells. J Immunol. 2004;173:1535–48.

154. Wu W, Zhang W, Tian L, Brown RB, Walters SM, Metcalf PJ. IRF7 Is Required for the Second Phase Interferon Induction during Influenza Virus Infection in Human Lung Epithelia. Viruses. 2020;12(4):377. doi: 10.3390/v12040377.

155. Basler CF, Mikulasova A, Paragas J, Mühlberger E, Klenk H, Palese P, vd. The Ebola Virus VP35 Protein Inhibits Activation of Interferon Regulatory Factor 3. J Virol. 2003;77(14):DOI:10.1128.

156. Ciccaglione AR, Stellacci E, Marcantonio C, Muto V, Equestre M, Marsili G, vd. Repression of Interferon Regulatory Factor 1 by Hepatitis C Virus Core Protein Results in Inhibition of Antiviral and Immunomodulatory Genes. J Virol. 2007;81(1):202–14.

157. Remoli AL, Marsili G, Perrotti E, Acchioni C, Sgarbanti M, Borsetti A, vd. HIV-1 Tat Recruits HDM2 E3 Ligase To Target IRF-1 for Ubiquitination and Proteasomal Degradation. MBio. 2016;7(5):e01528-16.

158. Iaconis G, Jackson B, Childs K, Boyce M, Goodbourn S, Blake N, vd. Rotavirus NSP1 Inhibits Type I and Type III Interferon Induction. Viruses. 2021;13(4):589 https://doi.org/10.3390/v13040589.

159. Mukai R, Ohshima T. Biochemical and Biophysical Research Communications Dual effects of HTLV-1 bZIP factor in suppression of interferon regulatory

factor 1. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 2011;409(2):328–32. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.05.014

160. Bakir M, Öksüz C, Karakeçili F, Baykam N, Barut Ş, Büyüktuna SA, vd. Which scoring system is effective in predicting mortality in patients with Crimean Congo hemorrhagic fever? A validation study. Pathog Glob Health [Internet]. 2022;116(3):193–200. Available at: https://doi.org/10.1080/20477724.2021.2012921

161. Sgarbanti M, Marsili G, Remoli AL, Orsatti R, Battistini A. IRF-7 New Role in the Regulation of Genes Involved in Adaptive Immunity. Ann N Y Acad Sci. 2007;333:325–33.

162. Daffis S, Samuel MA, Suthar MS, Keller BC, Gale M, Diamond MS. Interferon Regulatory Factor IRF-7 Induces the Antiviral Alpha Interferon Response and Protects against Lethal West Nile Virus Infection. J Virol. 2008;82(17):8465–75.

163. Rollenhage C, Macura SL, Lathrop MJ, Mackenzie TA, Doncel GF, Asin SN. Enhancing interferon regulatory factor 7 mediated antiviral responses and decreasing nuclear factor kappa B expression limit HIV-1 replication in cervical tissues. PLoS One. 2015;10(6):1–18.

164. Minamino K, Takahara K, Adachi T, Nagaoka K, Iyoda T. IRF-2 regulates B-cell proliferation and antibody production through distinct mechanisms. Int Immunol. 2012;24(9):573–81.

165. Ichikawa E, Hida S, Omatsu Y, Shimoyama S, Takahara K, Miyagawa S. Defective development of splenic and epidermal CD4 dendritic cells in mice deficient for IFN regulatory factor-2. Proc Natl Acad Sci. 2004;101(11):3909–14.

166. Smith EJ, Marie I, Prakash A, Garcı A, Levy DE. IRF3 and IRF7 phosphorylation in virus-infected cells does not require double-stranded RNA-dependent protein kinase R or Ikappa B kinase but is blocked by Vaccinia virus E3L protein. J Biol Chem. 2001;276(12):8951–7.

167. Preston CM, Harman AN, Nicholl MJ. Activation of Interferon Response Factor-3 in Human Cells Infected with Herpes Simplex Virus Type 1 or Human Cytomegalovirus. J Virol. 2001;75(19):8909–16.

168. Navarro L, Mowen K, Rodems S, Weaver B, Reich N, Spector D, vd. Cytomegalovirus Activates Interferon Immediate-Early Response Gene Expression and an Interferon Regulatory Factor 3-Containing Interferon-Stimulated Response Element-Binding Complex. Mol Cell Biol. 1998;18(7):3796–802.

169. Benjamin R, Sharma S, Zou W, Sun Q, Grandvaux N, Julkunen I, vd. Activation of TBK1 and IKK ε Kinases by Vesicular Stomatitis Virus Infection and the Role of Viral Ribonucleoprotein in the Development of Interferon Antiviral Immunity. J Virol. 2004;78(19):10636–49.

170. Andersson I, Karlberg H, Mousavi-Jazi M, Martinez-Sobrido L, Weber F, Mirazimi A. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Delays Activation of the Innate Immune Response. J Med Virol. 2008;80:1397–404.

171. Elaldi N, Yilmaz M, Bagci B, Yelkovan I, Bagci G, Gozel MG. Relationship Between IFNA1, IFNA5, IFNA10, and IFNA17 Gene Polymorphisms and Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Prognosis in a Turkish Population Range. J Med Virol. 2016;88:1159–67.

172. Zivcec M, Safronetz D, Scott D, Robertson S, Ebihara H, Feldmann H. Lethal Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection in interferon α/β receptor knockout mice is associated with high viral loads, proinflammatory responses, and coagulopathy. J Infect Dis. 2013;207(12):1909–21.

173. Pernis AB. The role of IRF-4 in B and T cell activation and differentiation. J Interf Cytokine Res. 2002;22(1):111–20.

174. Xu D, Meyer F, Ehlers E, Blasnitz L, Zhang L. Interferon Regulatory Factor 4 (IRF-4) targets IRF-5 to regulate Epstein-Barr virus transformation. J Biol Chem [Internet]. 2011;286(20):18261–7. Available at: http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M110.210542

175. Sharma S, Mamane Y, Grandvaux N, Bartlett J, Petropoulos L, Lin R, vd. Activation and regulation of interferon regulatory factor 4 in HTLV type 1-infected T lymphocytes. AIDS Res Hum Retroviruses. 2000;16(16):1613–22.

176. Alkan-çeviker S, Günal Ö, Kılıç SS. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Olgularının Retrospektif Analizi. Klimik Derg. 2019;32(January):275–80.

177. Karaşahin Ö, Karaşahin FE. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalarında Kanama Risk Skoru Bleeding Risk Score in Patients with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. Mikrobiyol Bul. 2021;55(3):327–41.

178. Özbey S. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Hastalarında Erken Ribavirin Kullanımının Fataliteye Etkisi. Klimik Derg. 2010;23(1):6–10.

179. Akyol D, Kıvrak Erdem E, Erdem HA, Pullukçu H, Sipahi OR, Taşbakan M. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi: 16 Olgunun Klinik Özelliklerinin ve Laboratuvar Bulgularının Retrospektif Değerlendirilmesi. Flora. 2020;25(4):544–8.

180. Ruhsar G, Buzgan T, Irmak H, Safran A, Uzun R, Aydin M, vd. The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey , 2002 — 2007. Int J Infect Dis. 2009;13:380–6.

181. Qaderi S, Mardani M, Shah A, Shah J, Bazgir N. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) in Afghanistan : A retrospective single center study. Int J Infect Dis [Internet]. 2021;103:323–8. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.11.208

182. Sheikh AS, Sheikh AA, Sheikh NS. Bi-annual surge of Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF): a five-year experience. Int J Infect Dis. 2005;9:37–42.

183. Kohase M, Vilcek J. Interferon induction with Newcastle disease virus in FS-4 cells: effect of priming with interferon and of virus inactivating treatments. Jpn J Med Sci Biol. 1979;32(5):281–94.

184. Swanepoel R, Gill DE, Shepherd AJ, Leman PA, Mynhardt JH, Harvey S. The Clinical Pathology of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. Rev Infect Dis.

1989;11(4).

185. Akinci E, Bodur H, Sunbul M, Leblebicioglu H. Prognostic factors , pathophysiology and novel biomarkers in Crimean- Congo hemorrhagic fever. Antiviral Res [Internet]. 2016;132:233–43. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.06.011